

Pesticides

Comment réduire les risques associés ?

Avignon 14, 15 et 16 novembre 2005



Programme
**« EVALUATION ET RÉDUCTION DES RISQUES LIÉS
À L'UTILISATION DES PESTICIDES »**

Palais des papes d'Avignon - 14, 15 et 16 novembre 2005

La France est le premier consommateur européen de pesticides (agriculture, voirie, traitement du bois ou divers usages privés). Soucieux de contribuer à la mise en place d'une politique nationale adaptée, le ministère chargé de l'environnement, en lien avec le ministère chargé de l'agriculture, a lancé en 1999 le Programme de recherche « Évaluation et réduction des risques liés à l'utilisation de pesticides » consacré aux pesticides. Il souhaite contribuer ainsi à la recherche de solutions alternatives à l'utilisation de ces substances pour le développement d'une agriculture durable.

Organisé par le ministère de l'écologie et du développement durable, le colloque « Pesticides : comment réduire les risques associés ? » est l'occasion pour les chercheurs investis depuis 5 ans dans le Programme de recherche, de restituer leurs résultats.

Axé autour de la dynamique des pesticides dans l'environnement, de leurs effets chroniques et des solutions envisageables pour limiter, voire abandonner, leur utilisation, ce colloque rassemble chercheurs, services de l'État, profession agricole, agences, industries et associations .

Au-delà de la présentation des résultats scientifiques, l'objectif de ce colloque est de permettre un dialogue entre tous les acteurs impliqués dans la gestion de l'environnement en s'appuyant sur des observations et des avancées concrètes : de la mise en place d'outils d'amélioration du diagnostic et de la prévention de la pollution des milieux naturels à des approches opérationnelles adaptées et donc plus efficaces.



Coordinateur du programme

Pour fonder ses orientations et ses décisions, le ministère de l'écologie et du développement durable (MEDD) s'appuie sur des bases scientifiques solides.

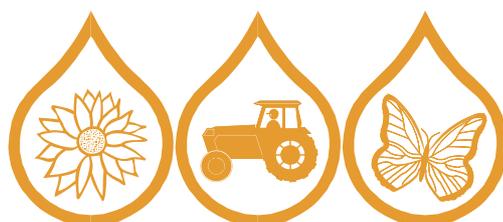
La recherche est donc constamment sollicitée en amont des besoins opérationnels du ministère au moyen de programmes qui mobilisent la communauté scientifique sur les sujets qui le nécessitent. Ces programmes font l'objet d'un pilotage et d'une valorisation sous la responsabilité du service de la recherche et de la prospective (SRP).

Le MEDD se doit également de mettre en œuvre le principe de précaution, ce qui suppose une bonne connaissance des travaux scientifiques en cours et des résultats disponibles.

L'apport de références scientifiques doit également être pensé en termes dynamiques. Il ne s'agit pas seulement de fournir des éléments les plus actuels mais de donner les clés de la compréhension de l'avenir. Des actions de prospective sont ainsi développées qui, sur des sujets choisis annuellement, permettent d'éclairer les choix stratégiques à l'aide de scénarios construits collectivement grâce à des méthodes rigoureuses et en lien étroit avec les décideurs et la communauté scientifique.

Le ministère de l'écologie et du développement durable a donc développé depuis une vingtaine d'années une action incitative de recherche visant à orienter les chercheurs vers des sujets en relation avec les politiques publiques. Le MEDD soutient des recherches finalisées dans différents domaines, un des axes privilégiés étant l'évaluation et la gestion des risques, qu'ils soient naturels ou liés aux activités humaines (industrie, agriculture, urbanisme, tourisme...).

Cet ouvrage est disponible auprès de Catherine Bastien Ventura, responsable du programme de recherche « Evaluation et réduction des risques liés à l'utilisation des pesticides » : catherine.bastien-ventura@ecologie.gouv.fr



PESTICIDES

comment réduire les risques associés ?

Colloque de restitution

Programme

« **EVALUATION ET RÉDUCTION DES RISQUES LIÉS
À L'UTILISATION DES PESTICIDES** »

Palais des papes d'Avignon - 14, 15 et 16 novembre 2005

Document publié sous la coordination de

Thierry CAQUET
INRA Rennes

et de

Catherine BASTIEN VENTURA
Ministère de l'écologie et du développement durable

avec l'appui de
Catherine GONDCAILLE
INERIS

TABLE DES MATIÈRES

AVANT - PROPOS	5
----------------------	---

SESSION 1 - TRANSFERT ET DEVENIR DES PESTICIDES DANS L'ENVIRONNEMENT

SYNTHESE DU VOLET 1 : Dynamique des pesticides dans l'environnement	9
---	---

TRAVAUX DE RECHERCHE FINANCÉS SUITE À L'APR 1999

- Approche cinétique de la stabilisation de pesticides dans les sols sous forme de résidus non facilement extractibles : conséquences sur l'accumulation et la libération différée des pesticides stabilisés21
- Rôle des aménagements d'origine anthropique (dispositifs enherbés et fossés) dans le transfert et la dissipation des produits phytosanitaires en Bassin Versant agricole) .27
- Etude du transfert des pesticides vers l'atmosphère lié aux activités agricoles : caractérisation des modalités, déterminisme et implication pour le bilan environnemental des cultures35
- Evolution et origines des apports atmosphériques de pesticides à l'échelle interrégionale43
- Recherche sur le déterminisme du transfert des pesticides et leur devenir dans les eaux de surface : incidence sur l'évaluation des risques49

TRAVAUX DE RECHERCHE FINANCÉS SUITE À L'APR 2002

- Stockage dans les sols à charges variables et dissipation dans les eaux de zoocides organochlorés autrefois appliqués en bananeraies aux Antilles : relation avec les systèmes de culture57
- Caractérisation du risque de contamination de la nappe de Beauce par les pesticides : élucidation des mécanismes du transport préférentiel et approche spatiale du risque à l'échelle du bassin hydrologique65
- Pesticides dans l'atmosphère : étude des Cinétiques et mécanismes de dégradation en laboratoires et mesures dans l'atmosphère «PACT»69

SESSION 2 - EFFETS DES PESTICIDES À DIFFÉRENTS NIVEAUX D'ORGANISATION BIOLOGIQUE : DE L'INDIVIDU À L'ÉCOSYSTÈME

SYNTHESE DU VOLET 2 : Evaluation des effets chroniques des pesticides sur des systèmes biologiques intégrés	77
---	----

TRAVAUX DE RECHERCHE FINANCÉS SUITE À L'APR 1999

- Effets des pesticides sur les capacités d'adaptation et de reproduction des insectes ..87
- Modifications structurales et fonctionnelles de communautés d'organismes aquatiques exposés à un mélange d'herbicide et d'adjuvant en mésocosmes lentique93
- Validation d'un test de laboratoire pour l'évaluation et la prédiction de la toxicité sub létale de produits phytosanitaires sur l'abeille domestique101
- Méthodes de détection et d'évaluation des effets des pesticides sur les micro-organismes du sol107
- Réponses des micro-algues d'eaux douces aux pollutions par les pesticides113

TRAVAUX DE RECHERCHE FINANCÉS SUITE À L'APR 2002	
• Impact des pesticides sur l'environnement marin (IPEM)	119
• Changements d'échelle et évaluation du risque écotoxicologique de mélanges entre substances actives herbicides et adjuvant	125
• Action directe et indirecte des insecticides sur les bactéries endocellulaires altérant la sexualité des insectes	131

SESSION 3 - DÉVELOPPEMENT DE MÉTHODES ET D'OUTILS POUR OPTIMISER L'UTILISATION DES PESTICIDES. DÉVELOPPEMENT ET MISE EN ŒUVRE D'APPROCHES PERMETTANT DE LIMITER L'USAGE DES PESTICIDES

SYNTHESE DU VOLET 3 : Développer des méthodes alternatives à la lutte chimique	139
--	-----

TRAVAUX DE RECHERCHE FINANCÉS SUITE À L'APR 1999	
• Gestion des populations de mauvaises herbes et évaluation de systèmes de culture intégrés pour une réduction de la pollution par les traitements herbicides	155
• Evaluation et gestion des risques spatio-temporels de pullulation du campagnol terrestre	163
• Utilisation et transfert des phytosanitaires dans un bassin versant urbanisé	169
• Les associations de variétés de blé pour limiter les épidémies et réduire l'utilisation de fongicides : critères de sélection, modalités d'application pratiques, durabilité	175
• Impact biocénétique des modes de protection contre le carpocapse des pommes .	181

TRAVAUX DE RECHERCHE FINANCÉS SUITE À L'APR 2002	
• Etude et modélisation des liens entre opérations culturales, caractères des fruits ou de la plante et contamination par les monilioses en verger de pêchers en vue d'une protection durable	187
• Ecobilan des luttes chimiques contre les larves phytophages du sol. Recherche de stratégies agronomiquement, écologiquement et socialement acceptables	195
• Conduite intégrée du colza et gestion du système de culture pour la réduction de l'utilisation des pesticides	201
• Viticulture, vins et pesticides	207

ANNEXE	214
------------------	-----

AVANT-PROPOS

Sélectionnés pour leurs propriétés biocides, les pesticides sont des substances dont l'utilisation ne saurait en aucun cas être uniquement régie par des considérations pratiques (facilité d'emploi, coût inférieur à celui d'autres méthodes, etc.). La connaissance du comportement et des effets écotoxicologiques de ces produits et la recherche de pratiques performantes en terme de risque environnemental constituent des objectifs importants pour les gestionnaires de l'environnement qui sont confrontés à des signaux souvent alarmants et à des objectifs parfois contradictoires. Il s'agit notamment de concilier les services apportés par les écosystèmes et la biodiversité à l'humanité et l'alimentation mondiale, voire de créer les conditions d'une synergie entre ces deux volets d'une réalité biologique unique.

Conscient des enjeux associés à la maîtrise de l'usage des pesticides, mais aussi des difficultés inhérentes à l'absence fréquente de connaissances ou d'outils adaptés, le Ministère de l'écologie et du développement durable a souhaité soutenir des actions de recherche susceptibles d'une part de compléter les connaissances en terme de processus (devenir, effets biologiques), et d'autre part de favoriser le développement de stratégies permettant de réduire, voire de supprimer, l'emploi de pesticides dans différents contextes (protection des cultures, entretien des infrastructures, etc.). Cette volonté s'est traduite par le lancement du Programme de recherche finalisée *Évaluation et Réduction des Risques liés à l'Utilisation des Pesticides*, pour lequel deux appels à propositions de recherche successifs (1999 et 2002) ont été émis. A chaque fois, l'accent a été mis sur la production de connaissances utilisables, immédiatement ou après transfert, de façon opérationnelle. Dans le cas des programmes destinés à la mise au point de méthodes ou de stratégies alternatives, un intérêt particulier a été porté aux dimensions sociales et économiques, la prise en compte de ces aspects étant indispensable pour la viabilité de ces nouvelles approches.

Le Programme a pour objectif de fournir des éléments de connaissances et/ou des outils susceptibles d'être transférés dans un délai raisonnable à divers utilisateurs, et plus particulièrement aux acteurs de la gestion de l'environnement. Ces acteurs sont bien entendu en premier lieu les services centraux et les services déconcentrés de l'Etat, mais il s'agit aussi de toutes les personnes ou organismes concernés, que ce soit au niveau local, régional ou national (agences de l'eau, collectivités locales et territoriales, profession agricole, agences, industriels, associations, etc.).

L'objectif de ce colloque de restitution est de faire le point sur les connaissances obtenues à ce jour dans le cadre de ce programme de recherche. Ces journées ont pour ambition de favoriser la diffusion de l'information relative aux avancées de la recherche et d'initier le dialogue avec des utilisateurs potentiels. C'est pourquoi le colloque a été voulu comme un forum permettant la rencontre entre les différents acteurs concernés. Une large place a été laissée aux débats, afin que chacun puisse avoir l'occasion de s'exprimer. Des plages de temps ont aussi été réservées pour permettre la rencontre avec les équipes de recherche.

Nous espérons que ce dialogue favorisera l'appropriation réciproque des besoins, des préoccupations et des objectifs des uns et des autres, et que le colloque contribuera au rapprochement des points de vue et des démarches, dans la perspective du développement durable.

Eric Vindimian

*Chef du service de la recherche et de la prospective
Ministère de l'écologie et du développement durable
Président du Comité d'Orientation du Programme*

Thierry Caquet

*Institut National de la Recherche Agronomique
Centre de Rennes
Président du Conseil Scientifique du Programme*





Session 1

TRANSFERT ET DEVENIR DES PESTICIDES DANS L'ENVIRONNEMENT

SYNTHESE DU VOLET 1 par Pierre CHASSIN et Corinne JAMBERT

- Dynamique des pesticides dans l'environnement

TRAVAUX DE RECHERCHE FINANCÉS SUITE À L'APR 1999

- Approche cinétique de la stabilisation de pesticides dans les sols sous forme de résidus non facilement extractibles : conséquences sur l'accumulation et la libération différée des pesticides stabilisés (Enrique BARRIUSO)
- Rôle des aménagements d'origine anthropique (dispositifs enherbés et fossés) dans le transfert et la dissipation des produits phytosanitaires en Bassin Versant agricole (Nadia CARLUER)
- Etude du transfert des pesticides vers l'atmosphère lié aux activités agricoles : caractérisation des modalités, déterminisme et implication pour le bilan environnemental des cultures (Pierre CELLIER)
- Evolution et origines des apports atmosphériques de pesticides à l'échelle interrégionale (Marc CHEVREUIL)
- Recherche sur le déterminisme du transfert des pesticides et leur devenir dans les eaux de surface : incidence sur l'évaluation des risques (Jean-François DUBERNET)

TRAVAUX DE RECHERCHE FINANCÉS SUITE À L'APR 2002

- Stockage dans les sols à charges variables et dissipation dans les eaux de zoocides organochlorés autrefois appliqués en bananeraies aux Antilles : relation avec les systèmes de culture (Yves-Marie CABIDOUCHE)
- Caractérisation du risque de contamination de la nappe de Beauce par les pesticides : élucidation des mécanismes du transport préférentiel et approche spatiale du risque à l'échelle du bassin hydrologique (Yves COQUET)
- Pesticides dans l'atmosphère : étude des Cinétiques et mécanismes de dégradation en laboratoires et mesures dans l'atmosphère «PACT» (Abdelwahid MELLOUKI)



SYNTHÈSE DU VOLET 1

DYNAMIQUE DES PESTICIDES DANS L'ENVIRONNEMENT

RÉDACTEURS :

Pierre CHASSIN

UMR 1219 INRA,
ENITAB, université
Bordeaux II,
"Oenologie
Ampelologie",
33405 Talence Cedex

Tél. 05 40 00 66 56

pierre.chassin@bordeaux.inra.fr

et

Corinne JAMBERT

UMR 7583 CNRS-
Univ, Paris VII- Univ.
Paris XII Laboratoire
Inter-universitaire des
Systèmes
Atmosphériques (LISA)
94010 Créteil Cedex

Tél. 01 45 17 15 47

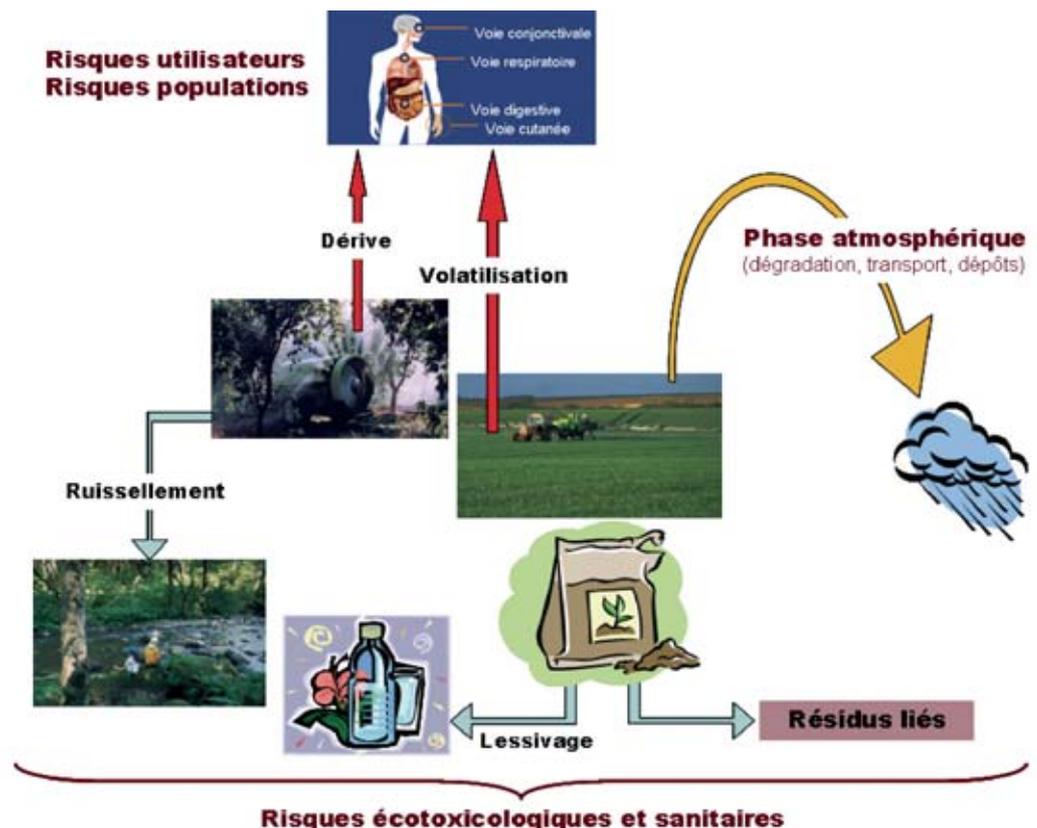
jambert@lisa.univ-paris12.fr

Pour ce volet, les **objectifs** des recherches sont l'identification et la quantification des voies de contamination et de dispersion des pesticides, la représentation de l'étendue et de la variabilité spatiale et temporelle de la contamination chimique et enfin, la description des phénomènes de transferts, de rétention et de transformation dans les différents compartiments de l'environnement.

MOTS CLÉS

Intégration, modélisation, molécules modèles, réservoirs, flux, transformation, stratégie de suivi, modèles de gestion et de prévision des risques, études d'impacts.

La dynamique des pesticides dans l'environnement constitue un des trois principaux volets de ce programme. Elle a été abordée selon plusieurs axes de travail associés aux milieux exposés aux pesticides. Elle concerne l'étude des mécanismes de dispersion et de contamination des milieux, de l'évolution et du temps de résidence des pesticides et de leurs métabolites dans les différents compartiments de l'environnement. Trois aspects ont été retenus au moment de la mise en place de l'appel d'offres. Ils concernaient l'étude des phénomènes de transfert et de transport atmosphériques, de la dynamique de la contamination des milieux aquatiques et, enfin, de la rétention et de la dégradation dans les milieux aquatiques et terrestres des pesticides.



Principales voies de dispersion des pesticides dans l'environnement et risques associés.

L'amélioration de l'évaluation des flux entre et dans les différents compartiments a été privilégiée ainsi que la modélisation des processus de transfert intégrée à des modèles de prise de décisions. Dans les projets retenus, le transport à longue distance avec l'étude des retombées humides et les émissions depuis le sol avec la caractérisation de la dérive, le transfert vers et dans les eaux de surface, l'implication des bandes enherbées et les fossés sur la rétention des composés ; la potentialité de stockage des pesticides dans les sols et de remobilisation à moyen ou long terme ; enfin, la dynamique liée à l'évolution des composés dissipés vers l'atmosphère vers les eaux ou retenus dans les sols ont été abordés. Le développement d'indicateurs de risques, initié ici, fait l'objet du 2^{ème} volet.

En l'absence de données fiables en France, l'étude du compartiment atmosphérique constituait un point prioritaire. Deux projets remaniés à la demande du C.S. ont été retenus (i) transfert des pesticides vers l'atmosphère par dérive et par volatilisation de post-application et (ii) évolution et origine des apports atmosphériques de pesticides à l'échelle interrégionale. Le transfert de pesticides vers l'atmosphère conduit tout d'abord à une perte par rapport aux quantités apportées à l'application. Les quantités correspondantes sont dispersées sous forme gazeuse et particulaire et peuvent être transportées à courte, moyenne ou longue distance. La contamination des environnements récepteurs (eau, sol, végétation, individus) dépendra de la distance à la source et des modalités d'application, des pertes et des caractéristiques des composés qui peuvent être lessivés par les pluies, adsorbés sur les particules¹ ou dégradés chimiquement dans l'atmosphère. En particulier, la contamination par voie atmosphérique explique la pollution observée des Grands Lacs en Amérique du Nord.

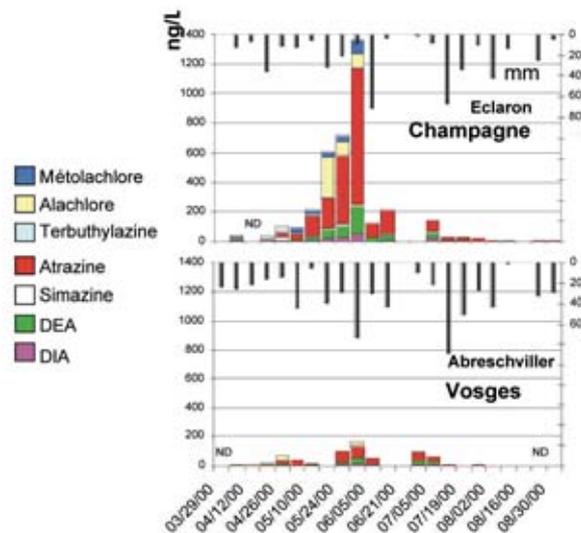
Le premier projet se traduit en premier lieu par la création d'une communauté scientifique française compétente dans le domaine de la mesure des flux de volatilisation dans des conditions proches de la réalité agricole avec la mise au point de méthodes de mesure des pesticides dans l'air, l'obtention de références expérimentales sur la dérive des pesticides sur grandes cultures et arboriculture et la conception de nouvelles méthodes pour l'étude des mécanismes de la volatilisation des pesticides. En second lieu, des références de volatilisation à l'échelle de la parcelle ont été obtenues sur 3 molécules –trifluraline, alachlore et atrazine– dans deux conditions pédoclimatiques, Rennes et Grignon. La volatilisation est un phénomène de quelques jours à quelques semaines selon les composés, présentant un cycle nyctéméral. Elle est réduite après incorporation dans le sol. Avec le composé présentant le plus fort potentiel de volatilisation, la trifluraline, les quantités volatilisées peuvent représenter, après 6 jours, jusqu'à 40 % de la dose appliquée mesurée. Ceci est à relier à la définition de la DT50 des composés évaluée au champ par l'analyse des résidus car elle contient, pour les composés les plus volatils, la dégradation et la volatilisation.

La volatilisation sur sol nu est reproduite de manière satisfaisante par modélisation, sauf l'heure d'occurrence du pic de volatilisation journalier. Les perspectives de développement de la modélisation portent sur la paramétrisation de l'adsorption en fonction du contenu en eau du sol. Le module de volatilisation dans le modèle de bilan PRZM testé sur les trois molécules a montré des limites importantes. Toutefois, après un calage des paramètres empiriques et de la constante de Henry, il a permis de prédire relativement correctement les autres termes du bilan environnemental, lixiviation et accumulation.

Les concentrations en milieu urbain mesurées dans la ville de Rennes sont faibles, bien inférieures à celles mesurées en proximité des traitements. Elles sont légèrement inférieures à celles trouvées par les réseaux de surveillance de la qualité de l'air en France. La corrélation entre la présence de pesticides dans l'atmosphère et les applications agricoles a été mise en évidence par la réalisation de prélèvements quotidiens alors que les conséquences de ces applications sont "lissées", donc indétectables, par des prélèvements hebdomadaires. Ceci mobilise toutefois des méthodes de mesures très sensibles et engage des coûts supplémentaires.

1 D'une façon générale, la concentration d'une molécule pesticide à la surface des particules est beaucoup plus élevée que dans la phase liquide ou gazeuse qui les contiennent. Il est néanmoins **essentiel** de se rappeler que les quantités présentes à l'état adsorbé sont très inférieures, de l'ordre de quelques pourcents, à celles contenues dans la phase liquide ou gazeuse.

Le deuxième projet, sur l'évolution et l'origine des dépôts humides atmosphériques de pesticides, fait le pendant du précédent. Il s'agit en particulier de suivre l'évolution saisonnière de la contamination des retombées atmosphériques, dans les pluies, à l'échelle régionale (50 à 500 km) et à l'échelle interrégionale (> 500 km). L'étude a été réalisée sur 6 sites placés dans des environnements agricoles (bocage et cultures intensives), urbains et forestiers. Ils sont situés sur un axe transversal Bretagne, Ile-de-France, Vosges.



Phénoménologie des dépôts atmosphériques des produits herbicides en région agricole et forestière.
(On peut remarquer la saisonnalité, la localité et l'importance des dépôts en fonction des sites.)

La contamination atmosphérique observée est d'origine nationale. Seule une petite proportion des organochlorés est susceptible de provenir d'un transport à longue distance, par suite de leur persistance dans l'atmosphère². La détermination du bruit de fond de pesticides, organochlorés ou non, ne concerne seulement que les molécules persistantes dans les sols. Pour la majorité des molécules les moins persistantes, notamment pour les molécules relativement volatiles et à faible temps de demi-vie dans l'atmosphère comme l'alachlore et la trifluraline, la contamination est saisonnière et limitée à l'échelle régionale et/ou locale. Il est également noté que la contamination des dépôts est toujours postérieure aux traitements ; ce qui voudrait dire que la volatilisation se fait à partir des couverts végétaux et du sol et non lors des applications des pesticides aux cultures.

Plusieurs conséquences à ces deux études. Elles concernent la généralisation des observations, l'estimation des impacts et les voies d'exposition aux pesticides. En ce qui concerne la volatilisation, les méthodes expérimentales sont transposables à d'autres composés moyennant la mise au point des méthodes analytiques de dosage des composés. L'extrapolation au champ de résultats acquis au laboratoire reste délicate alors qu'elle est possible dans le cas des données obtenues avec les tunnels de ventilation par l'utilisation conjointe des données et de la modélisation qui constitue un outil d'extrapolation puissant à d'autres composés ou conditions pédoclimatiques.



Mesures de la volatilisation en conditions semi contrôlées (tunnels de ventilation) et au champ par les méthodes micro-météorologiques.

Par rapport aux impacts, les données obtenues expérimentalement ou par simulation permettent d'évaluer les quantités déposées près des zones d'application par dérive ou

2 Pour ces composés, la contamination des dépôts atmosphériques est également maximale en zone agricole intensive, Ile de France et Champagne.

par volatilisation moyennant un couplage avec un modèle de dispersion/dépôts. Une modélisation simple des variations spatio-temporelles de la concentration en pesticides sous forme gazeuse à proximité des zones traitées suivant l'application devient alors possible. Des problèmes restent néanmoins à résoudre autour de la partition entre phase gazeuse et gouttelettes dans le nuage de pulvérisation, mais aussi entre phase gazeuse et aérosols pour les produits volatilisés après l'application, tant au point de vue expérimental que celui de la modélisation.

Ces travaux constituent une première étape pour évaluer les sources et estimer les expositions aux pesticides par voie aérienne. Il sera néanmoins nécessaire de (i) compléter le terme source et de l'intégrer dans l'espace et le temps (ii) coupler les modèles d'émission et de dispersion atmosphérique et (iii) intégrer des processus complémentaires comme la partition gaz/particules, les dépôts secs et humides et la dégradation photochimique atmosphérique. Ce dernier point fait l'objet d'une étude financée dans le deuxième appel d'offres (cf. résumé intermédiaire ci-dessous).

En conclusion, ces études apportent déjà des éléments de réponse aux questions posées dans l'expertise collective INRA-Cemagref sur les pesticides. On citera :

- la présence de pesticides dans toutes les phases atmosphériques en concentration variable dans le temps et l'espace est avérée. Une contamination chronique globale existe avec les composés les plus persistants. La contamination du compartiment atmosphérique reste cependant principalement locale et il existe une relation directe entre les concentrations dans les phases gazeuse et particulaires atmosphériques ou dans les eaux de pluie et les périodes d'application.
- les dépôts humides sont des phénomènes brefs et d'intensité inégale. Les quantités totales déposées en $g \cdot ha^{-1}$ sont de l'ordre du pourcent des doses apportées.
- en ce qui concerne le suivi des pesticides par les AASQA (Associations Agréées de surveillance de la Qualité de l'Air), la fréquence et la durée d'échantillonnage doivent être adaptées au contexte local (agriculture intensive vs zone forestière, milieu urbain vs milieu rural...) et à la période des traitements. Pour les régions caractérisées par une agriculture intensive, on pourra pour les dépôts humides (qualité des précipitations) se limiter aux périodes de traitements de printemps. Les molécules à rechercher prioritairement sont spécifiques des activités agricoles dominantes à l'échelle locale (cultures, vignobles, productions fruitières...). La mise en place de collecteurs de précipitations est simple et l'analyse d'échantillons liquides peut être confiée aux laboratoires agréés pour la surveillance de la qualité des ressources en eau. La mise en œuvre de moyens de contrôle adaptés à la surveillance des pesticides dans l'air doit cependant être poursuivie afin de compléter le jeu de données relatif notamment aux molécules peu solubles en phase gazeuse et particulaire. Les travaux de ce type permettront à terme de mieux comprendre la pollution par les pesticides en zones agricoles/urbaines (eaux de surface et sols), les apports pouvant se faire par dépôt humide ou par dépôt sec.



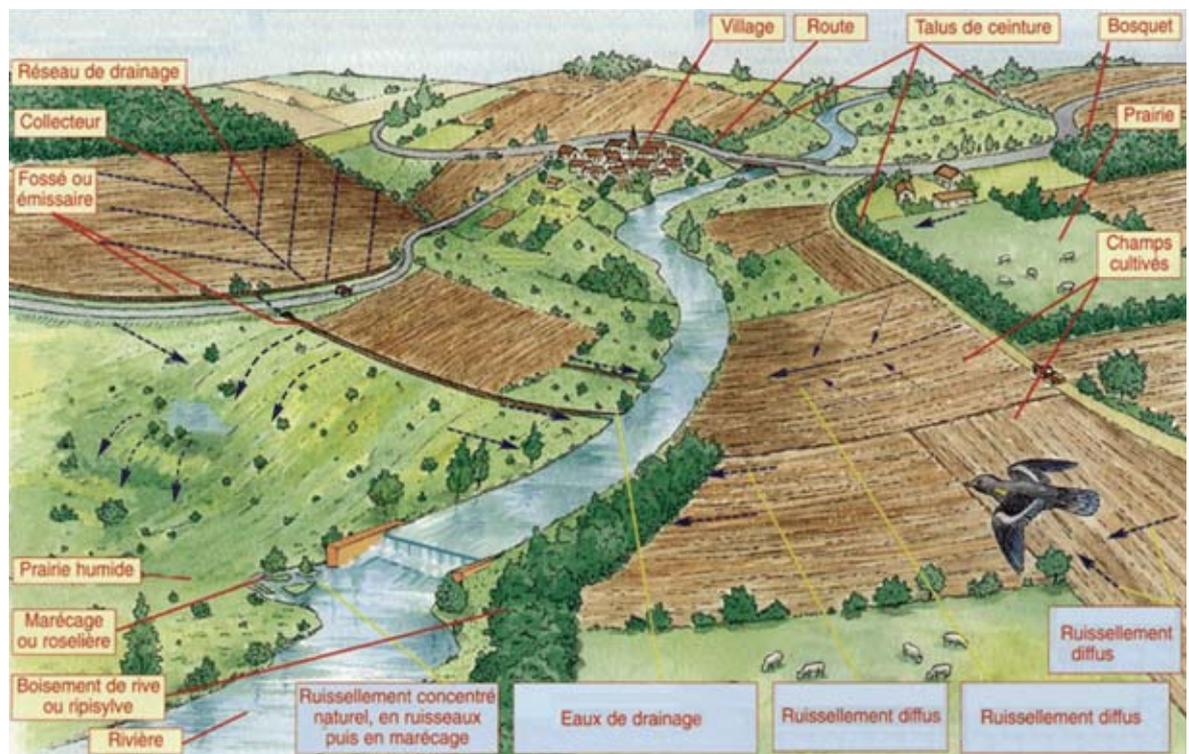
Le deuxième thème de recherche était orienté vers l'étude des transferts dans les bassins d'alimentation des cours d'eau et des nappes et la dynamique de la contamination des milieux aquatiques. La contamination des eaux par les pesticides dépend en effet de la voie d'écoulement (ruissellement, drainage artificiel, percolation) et de l'occurrence d'évènements pluvieux après application qui constituent le risque de contamination maximal. Les transferts entre eaux de surface et eaux souterraines et la relation entre pollution parcellaire et pollution à l'échelle du bassin versant impliquent des processus de dilution, infiltration profonde, rétention, et dégradation sur le moyen et long terme. En amont de ce thème, l'originalité de l'appel d'offres était de demander aux équipes de situer leurs résultats par rapport aux diverses recommandations, notamment comment concevoir des

zones tampons limitant les transferts vers les cours d'eau ou les fossés (bandes enherbées, aménagement de parcelles, haies ou autres). Deux projets ont été retenus sur le déterminisme et le rôle des dispositifs enherbés et des fossés sur le transfert et la dissipation des pesticides dans les bassins versants. Les études ont été réalisées sur les sites du Naizin (56), Roujan (34), Ruiné (16) et de la Jaillière (44).

Les travaux ont confirmé le rôle majeur de l'infiltration dans l'efficacité des bandes enherbées dans la dissipation des pesticides. Dans le cas d'une infiltration nulle ou réduite, leur efficacité n'est significative que pour les molécules fortement adsorbées. Elle dépend alors de la teneur en matières organiques du matériau de surface³, notamment des quantités de mâts racinaires⁴. L'efficacité des fossés et celle des bandes enherbées dans la dissipation des pesticides sont liées. D'un point de vue opérationnel, deux questions doivent être posées. Elles concernent :

- Le positionnement systématique de ces structures en bordure de cours d'eau. Il n'est pas le plus adapté compte tenu du caractère souvent humide de ces zones avec une infiltration nulle ou réduite et la possibilité d'écoulements sub-surfaceaux,
- La concentration des écoulements au sein d'un dispositif tampon est susceptible de réduire significativement la capacité d'infiltration, donc son efficacité. Alors qu'une teneur en matière organique élevée est favorable (structure, stabilité structurale, potentiel de dégradation...), elle est susceptible d'induire des écoulements préférentiels qui altèrent le pouvoir de rétention et de dégradation.

Le fonctionnement d'une bande enherbée ou boisée dépendra à la fois de ses caractéristiques intrinsèques et des versants situés à son amont et à son aval. Il est donc délicat de fournir des largeurs types. Dans ce contexte, les règles empiriques proposées par le CORPEN, proches de celles de l'USDA, restent valables. Pour les fossés, un fauchage laissant les résidus en place est ainsi préférable à un curage régulier des fossés.



Une illustration de la complexité des phénomènes de contamination des eaux de surface.

3 Pour les fossés, le pouvoir tampon et dissipateur sont également liés à la teneur en matières organiques des lits.

4 Les matières organiques particulières sont les plus efficaces en terme de rétention et les cinétiques couplés adsorption-désorption modulent significativement l'efficacité des aménagements.

Les résultats montrent aussi que la contribution des aquifères aux pics d'exportation est faible. En revanche, leur contribution est significative à l'échelle saisonnière et au maintien du niveau de contamination de base du réseau hydrographique⁵.

Pour la conception d'indicateurs de risques de transferts vers les eaux superficielles, les analyses développées s'appuient sur des chroniques pluriannuelles acquises entre 1994 et 2002 sur les pratiques agricoles et des données hydrologiques et de la qualité de l'eau du bassin du Ruiné. L'indicateur développé à l'échelle du bassin versant est calculé à l'échelle de chaque entité homogène pour les critères choisis. Il utilise des données simples accessibles aux échelles intermédiaires et prend en compte des critères de sensibilité structurelle (nature des sols, pente, distance aux émissaires) et de pratiques (culture ou rotation, calendrier des apports et types de molécules apportées). L'indicateur peut être synthétique (ensemble des matières actives), calculé pour une matière active spécifique pour la confrontation entre les quantités simulées et observées, pour une campagne ou sur une rotation. Plusieurs méthodes ont été testées pour combiner les différentes variables constitutives de l'indicateur entre elles : analyse statistique par critère puis agrégation de critères ou analyse multicritères Electre. Un modèle statistique a été développé pour analyser la corrélation entre les variables constitutives de l'indicateur et les données du suivi hydrologique (débits et concentrations). Le calcul de la contribution de chaque parcelle aux flux mesurés dans le cours d'eau doit permettre de confronter cet indicateur et le diagnostic CORPEN centré sur la parcelle, mais ne prenant pas en compte la continuité linéaire et spatiale du risque⁶. La comparaison spatiale avec les résultats de l'indicateur en cours montre la difficulté de cette démarche mais aussi la complémentarité de deux approches. Le calage de ces indicateurs synthétiques et des modèles de risques de contamination des eaux de rivière avec les données expérimentales est en cours de réalisation.

La pluviométrie est le facteur aléatoire et naturel déclenchant la contamination des hydrosystèmes par les pesticides. Tous les événements pluvieux ne produisent pas les mêmes effets. Ils sont caractérisés par leur intensité, l'état de remplissage des réservoirs du sol et leur positionnement par rapport aux applications des pesticides. Ils sont classés en utilisant la Classification Ascendante Hiérarchique⁷. 206 événements de crues ont été répertoriés et inter-classifiés en 6 classes permettant de comparer et d'apprécier les impacts des modifications des pratiques sur la qualité des eaux. Le caractère hydrologique atypique des années 2001-2004 Ruiné, ne permet pas d'évaluer l'importance du facteur géochimique dans la rétention ou la dégradation des pesticides par la matière organique malgré un premier bilan des apports de carbone organique dissous et particulaire à l'exutoire du bassin. Une modélisation simulant le ruissellement par dépassement de la capacité d'infiltration du sol qui est le processus prépondérant en climat méditerranéen ou sur les limons battants du Nord de la France est développée. Les modèles à l'échelle du bassin versant restent dédiés à la recherche. Ils ne sauraient être utilisés dans un but opérationnel dans l'immédiat. Dans le cas des bassins versants armoricains, associant écoulements de surface (ruissellement) et de subsurface (nappe superficielle), des outils prenant en compte l'événement pluvieux ont été développés. Ils permettent d'évaluer l'impact de différentes stratégies de maîtrise de la contamination des eaux par les pesticides. Ils aident le gestionnaire du bassin versant dans (i) sa tâche de surveillance de la qualité de l'eau à l'exutoire par simulation de "scénarios typiques" et d'identification des zones à risques (ii) son rôle de conseil en proposant des règles qualitatives sur les pratiques agricoles et de compréhension en montrant les liens entre climat, pratiques et qualité des eaux.

Une orientation innovante concernant le suivi des molécules mères et de leurs métabolites de plus en plus polaires a été soutenue. Une nouvelle méthode associant une extraction avec des solutions alcooliques et la chromatographie de partage à polarité de phase

5 Ceci se comprend d'autant mieux que les capacités de dégradation et de rétention du milieu sont faibles quand les produits pesticides ont traversé la couche biologiquement active du sol.

6 Une autre difficulté est que les diagnostics ont été réalisés par plusieurs personnes, sur quelques exploitations, avec une restitution sous forme papier peu standardisée. La synthèse et la transcription dans le SIG sont donc délicates, car nécessairement sujettes à une certaine interprétation et homogénéisation de la formulation.

7 Les critères de réunion de classes voisines sont leur distance et la perte d'inertie due au regroupement. La méthode utilisée est la méthode de Ward qui consiste à agréer les individus qui font le moins varier l'inertie intra-classe.

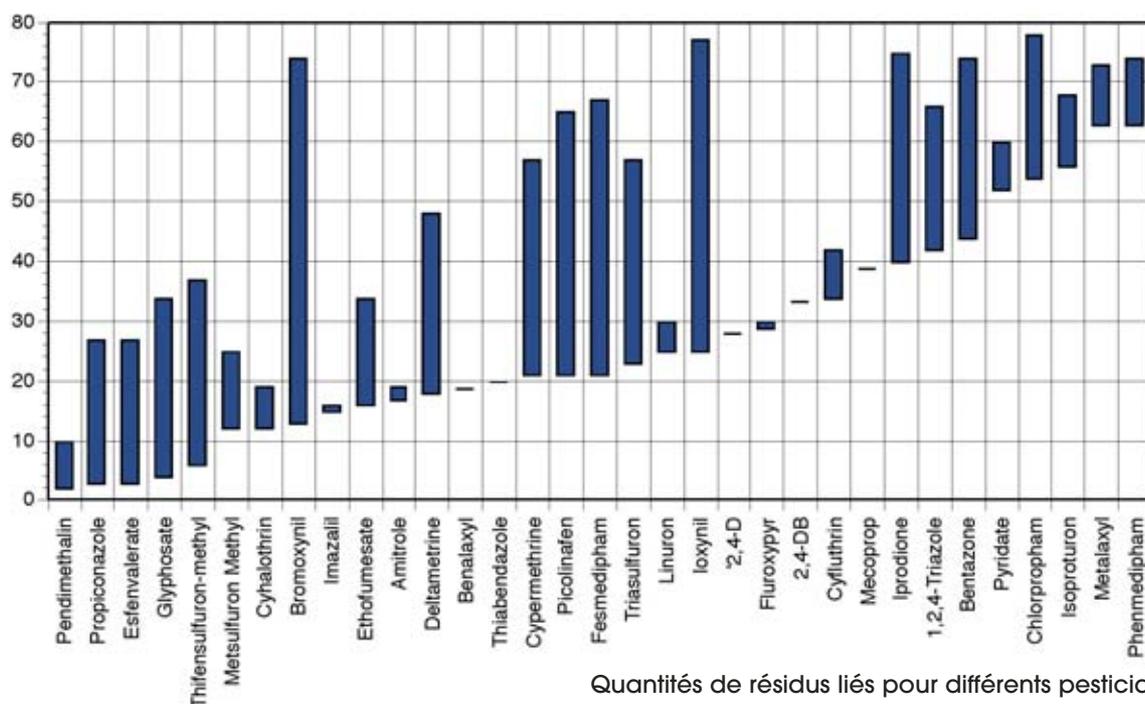
inversée avec une phase mobile eau/acétonitrile a été développée. Les composés les plus fréquemment détectés sont les triazines et leurs composés désalkylés. Il est à noter que les concentrations en déséthylatrazine (DEA) sont d'un niveau bien plus élevé que celui des autres molécules. Les urées et leurs produits de dégradation, l'acilonifen et la trifluraline ne sont détectés que ponctuellement.



Le troisième thème des recherches était orienté vers l'étude des phénomènes de rétention et dégradation des pesticides dans les milieux aquatiques et terrestres. L'immobilisation des composés dans le sol constitue une limite de leur diffusion dans l'air ou vers l'eau. Celle-ci peut conduire toutefois à la formation de résidus liés non-extractibles. La stabilité des composés et les modes d'application peuvent contraindre les processus de dégradation. Une minéralisation complète pourrait cependant constituer un facteur de dépollution majeur des compartiments eau et sol. Dans ce volet, l'étude de l'extraction, de la formation et du devenir des résidus liés non-extractibles constituait un point prioritaire.

En effet, tous les pesticides forment dans le sol des résidus non-extractibles, appelés résidus liés, dans des proportions variables en fonction de leur nature chimique et des conditions du milieu. La proportion de résidus liés peut varier de quelques pourcents pour la pendiméthaline, à plus de 70 % pour le métalaxyl ou le phenmédiphame. On constate également des variations importantes pour un même produit en fonction des facteurs environnementaux, de la formation des résidus liés étant directement liée à la teneur en matière organique des sols et aux facteurs favorisant l'activité biologique des sols (température, humidité).

La non extractibilité des résidus des pesticides est expliquée par différentes hypothèses qui font toutes intervenir des interactions entre les pesticides ou leurs métabolites et les matières organiques des sols. On distingue celles qui font appel à l'établissement de liaisons chimiques et celles correspondant à un piégeage physique dans la microporosité des macromolécules humiques⁸. D'un point de vue moléculaire, les pesticides ou leurs métabolites présentant des groupements chimiques réactifs, type aniline ou chlorophénol, ont tendance à former une plus large proportion de résidus liés. En revanche, les molécules comportant un nombre élevé de substituants électronégatifs (halogènes, par exemple) ont tendance à former moins de résidus liés que des molécules ayant des structures proches mais avec moins de substituants.

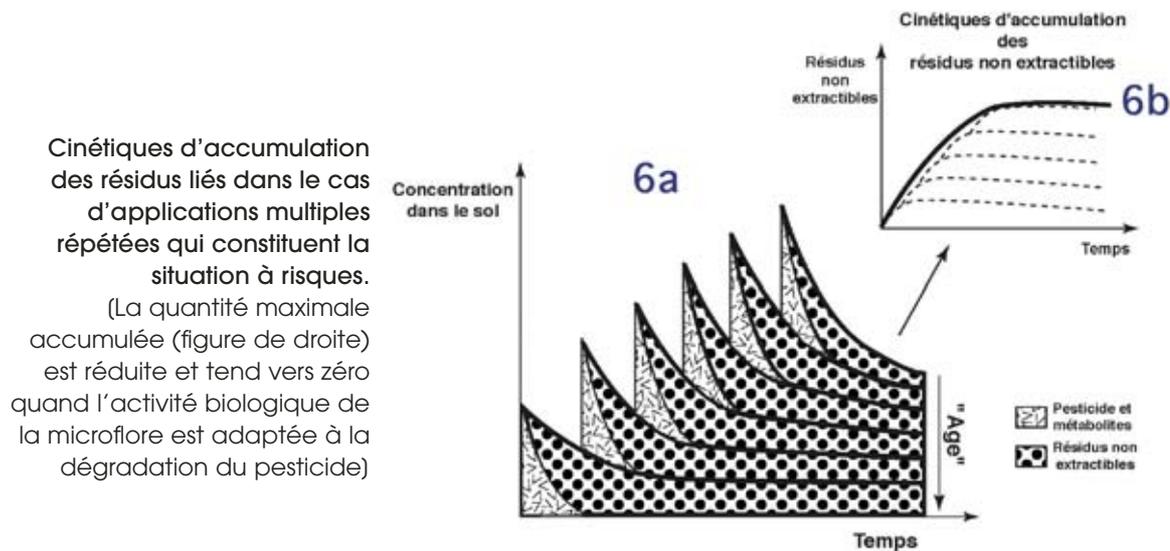


8 Les techniques d'étude de la matière organique des sols ont été utilisées pour caractériser et quantifier l'importance relative des mécanismes de formation des résidus par liaisons chimiques et piégeage physique. Ainsi, la solubilisation alcaline, le fractionnement chimique et l'analyse chromatographique permettent d'émettre des hypothèse sur les types de résidus liés. Pour l'atrazine, 30% des résidus liés sont des composés chimiques très proches de la molécule mère et 50 à 60% sont probablement formés par piégeage physique dans des macromolécules humiques.

Dans l'étude des processus, la biomasse microbienne constitue aussi un compartiment central à considérer tant par sa capacité de stockage que par celle de remobilisation des résidus liés. Pour un pesticide donné, l'existence d'une relation directe entre l'activité microbienne des sols et le taux de formation des résidus liés est avérée⁹.

L'évaluation des risques associés aux résidus liés passe par l'acquisition d'informations sur (i) leur nature chimique, (ii) les quantités formées et (iii) les cinétiques de mobilisation. Dans cette évaluation, il est admis que les résidus formés par des liaisons chimiques seront plus stables que ceux résultant d'interactions physiques qui auront un degré de réversibilité supérieur en fonction des modifications de l'environnement physico-chimique. En ce qui concerne le premier aspect, il a été mis en évidence qu'une partie des résidus liés de l'atrazine correspondent à la molécule mère et à des métabolites proches. Dans le cas de l'isoproturon, la composante "réactivité chimique" est beaucoup plus importante que pour l'atrazine, ce qui permet d'expliquer pourquoi les constantes de vitesse estimées de mobilisation des résidus liés d'isoproturon sont toujours plus faibles que celles observées avec ceux de l'atrazine.

Une originalité du projet retenu a été d'étudier les risques associés aux situations "multi applications"¹⁰ car deux hypothèses sont possibles (i) accumulation de résidus liés jusqu'à une valeur limite qui résultera des cinétiques de formation et de dégradation et (ii) diminution des résidus liés suite à l'induction d'une activité biologique spécialisée dans la dégradation des pesticides.



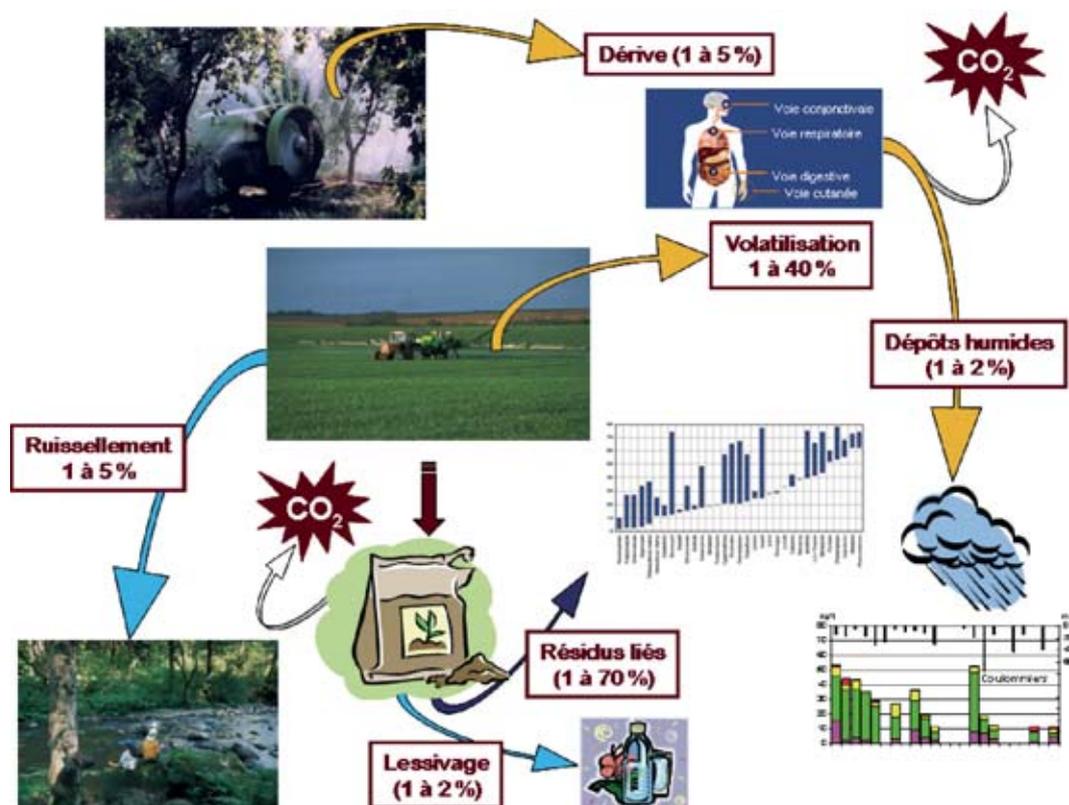
La modélisation compartimentale a permis de mettre en évidence une formation rapide de résidus liés à partir des résidus hydrosolubles, a priori les plus disponibles dans les sols. Ce point est à relier à la fonction de stockage des résidus liés de la biomasse microbienne, ≈ 10 % des résidus liés totaux. Elle a aussi permis d'estimer les constantes des flux de mobilisation des résidus liés qui sont spécifiques des molécules —elles seraient d'autant plus faibles que la proportion de résidus formés par liaisons chimiques est grande— et systématiquement plus faibles dans les sols acides que dans les sols calciques¹¹. En convertissant les constantes

9 La contribution quantitative du compartiment biomasse microbienne aux résidus liés est estimée en utilisant les techniques de fumigation développées pour la mesure du carbone et de l'azote total de la biomasse. Dans le cas de l'atrazine et de l'isoproturon, la part de ¹⁴C incorporé varie entre 1 et 6 % de la radioactivité initiale apportée, soit entre 3 et 14 % des résidus liés totaux. Une partie des résidus est incorporée dans les constituants biochimiques des cellules microbiennes (lipides, glucides, protéines).

10 Dans leur synthèse bibliographique (*Environmental Pollution*, 133 (2005) 85–90), Barraclough, Kearney et Croxford concluent "Il semble probable qu'une grande partie de la fraction résidus liés devient indistinguable de la Matière Organique du Sol avec le temps, et que les risques environnementaux posés par des résidus formés par suite d'applications simples seront faibles. Dans ce cas-ci, la formation de résidus liés peut être considérée comme une solution environnementale. La situation est moins claire quand les résidus liés sont formés sur de longues périodes et font suite à des apports multiples de plusieurs composés. La difficulté de l'identification des risques, ainsi que les problèmes pour estimer la disponibilité biologique, signifient que les procédures environnementales conventionnelles d'évaluation des risques sont inapplicables. Ainsi, alors qu'il semble probable que le risque de dommages environnementaux est bas, il y a un besoin de plus de travaux dans lesquels les effets biologiques de tels résidus multiples seraient évalués".

de vitesse de mobilisation en valeurs de durée de demi-vie (DT50), il est montré que les DT50 des résidus liés sont relativement faibles dans les sols ayant acquis une activité biologique spécifique de dégradation des pesticides (DT50 < 1 mois) et les quantités totales des résidus liés sont limitées. En revanche, dans les sols bruns et pour l'isoproturon, les DT50 des résidus liés sont supérieures à un 1 an avec des risques d'accumulation élevés.

En conclusion, toute pratique agricole modifiant les facteurs intervenant directement ou indirectement sur le devenir des pesticides aura une incidence dans la formation des résidus liés. Il peut s'agir de modifications de l'activité biologique impliquée dans la transformation des pesticides, ou de modifications de la matière organique des sols. Une adaptation de l'activité biologique à la dégradation des pesticides due à des applications répétées d'un même pesticide sur un même sol peut induire une minéralisation rapide et une formation réduite des résidus liés.



Représentation schématique du bilan des opérations de recherches du volet 1.

Un bilan intéressant est la valorisation faites des résultats. Actuellement, plus de 40 publications dans des revues à comité de lecture, 40 communications à des colloques, 1 chapitre d'ouvrage et plus de 20 rapports d'étudiants de DEA, DESS et d'écoles d'ingénieurs et plusieurs thèses ont été produits. Le rôle de formation de ces travaux doit être souligné.

Un autre résultat significatif est la participation et l'intégration des équipes françaises ayant développé des compétences en chimie atmosphériques à des groupes de travail européens.

Pour les dispositifs enherbés et boisés, les résultats obtenus ont contribué à la rédaction de recommandations pratiques pour la Direction Générale de la Forêt et des Affaires Rurales du MAAPR et la Direction de l'Eau du MEDD. Ils sont également destinés à servir de base à une réactualisation du guide du CORPEN de 1997.

11 Dans les sols calciques, l'induction d'une activité biologique spécifique capable de dégrader rapidement l'atrazine se traduit par une augmentation des constantes de mobilisation des résidus liés d'atrazine. Cela voudrait dire que les microorganismes ainsi activés sont capables de s'attaquer à des résidus a priori peu ou non disponibles.

D'autres projets relevant de ces thématiques ont été retenus dans un deuxième appel d'offres. Un point d'étape est donné ci-dessous.

PESTICIDES DANS L'ATMOSPHÈRE : Étude des cinétiques et mécanismes de dégradation en laboratoire et mesures dans l'atmosphère

Ce projet découle assez directement des résultats obtenus précédemment qui démontrent que l'utilisation des pesticides entraîne leur présence dans l'atmosphère. Si l'on veut relier la volatilisation aux retombées atmosphériques, il est nécessaire de préciser le comportement et le devenir de ces composés. Ce projet a pour objectif d'une part de construire une base de données décrivant le comportement atmosphérique (annuel et journalier) en atmosphères urbaines et rurales d'une trentaine de substances actives en région Centre et d'autre part d'étudier les processus de dégradation atmosphérique de certaines molécules. Ce projet est porté par les laboratoires de la Combustion et Systèmes Réactifs (Orléans) et Micropolluants Technologies SA et le réseau de surveillance de la qualité de l'air en région Centre, Lig'Air.



Des variations hebdomadaires et saisonnières sont observées sur la plupart des molécules détectées. Le printemps reste la saison la plus chargée en pesticides dans l'air ambiant. La trifluraline est la molécule qui présente le taux de détection le plus élevé (69 %). Sa présence est pratiquement notée durant toute l'année, sauf pendant la période estivale au cours de laquelle ses concentrations deviennent faibles, voire indétectables. Le comportement des autres molécules traduit plus au moins les pratiques agricoles et l'utilisation de ces produits sur et au voisinage des sites étudiés. Le comportement atypique de la trifluraline reste encore incompréhensible.

Les études menées sur la dégradation atmosphérique de la trifluraline sont réalisées dans des conditions proches du milieu atmosphérique réel dans le réacteur solaire européen EUPHORE (EUropean PHOtoREactor) situé à Valence (cf. photo ci-jointe). Elles indiquent que cette molécule est photolysée très rapidement par rayonnement solaire avec une durée de vie de l'ordre de 15 minutes. La photolyse de la trifluraline conduit à la formation d'aérosols et à un autre produit qui n'a pas encore été identifié mais qui semble présenter la même structure que la trifluraline.

Les différentes voies de dégradation du dichlorvos ont été étudiées avec une équipe du CGS de l'Université de Strasbourg. Les résultats montrent que ce composé est dégradé en phase gazeuse par réaction avec un radical hydroxyle (OH). Il a une durée de vie de l'ordre de 6 heures et le phosgène (COCl_2) est le principal produit de dégradation.

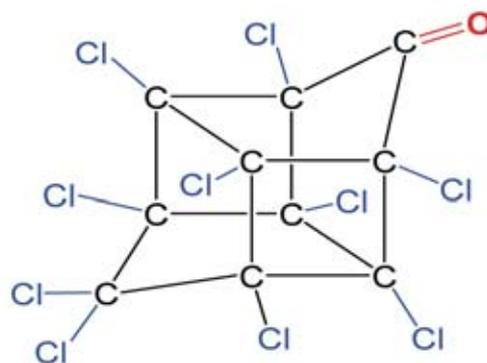
STOCKAGE DANS LES SOLS À CHARGES VARIABLES ET DISSIPATION DANS LES EAUX DE ZOOCIDES ORGANOCHLORÉS APPLIQUÉS EN BANANERAIES AUX ANTILLES : Relation avec les systèmes de culture

Ce programme fait suite à la détection de multiples pollutions par les organochlorés des eaux captées ainsi qu'à la mise en évidence de l'importance des surfaces polluées par les organochlorés et des problèmes de contamination des "racines" aux Antilles. Des arrêtés préfectoraux conditionnant la commercialisation des produits à une analyse "négative" ont été pris. Ce programme développé par l'INRA et le CIRAD-FHLOR se veut apporter des réponses aux questions suivantes :

- Est-ce que le chlordécone se dégrade dans les sols tropicaux volcaniques ?
- Est-ce que le chlordécone est fortement stocké dans les sols ? Quel est son temps de résidence ?
- Quelles sont les zones en apparence les plus polluées ?
- Quelles sont les voies de décontamination des sols ?
- Combien de temps cela prendra-t-il ?
- Peut-on envisager une bioremédiation ?
- Est-on sûr que les plantes à organes aériens récoltés ne sont pas contaminées ?



Photo A. Lafont, INRA-APC



Le chlordécone

Des résultats intermédiaires intéressants

Il n'y a pas ou très peu de contamination interparcellaire, ni de transferts superficiels intra-parcellaires. Les parcelles n'ayant jamais reçu de chlordécone n'en contiennent pas, sauf quelques traces mesurables sur quelques dizaines de mètres dans les gouttières concaves réceptrices de l'eau de ruissellement de parcelles contaminées situées en amont.

Un modèle d'éluion par les eaux de drainage avec une cinétique du premier ordre, rend bien compte des teneurs résiduelles en chlordécone dans les andosols et sols ferrallitiques de Guadeloupe et de Martinique. Sa validité confirme donc que le chlordécone n'est pas dégradé. Seule une lente éluion par les eaux de drainage pourra faire baisser les stocks présents absorbés dans les sols. Les différences de teneurs en chlordécone observées dans les sols de la Guadeloupe et de la Martinique sont liées au mode de culture. Mais les stocks totaux résiduels sont en réalité les mêmes, et la gravité de la contamination analogue. Il est rare que les teneurs des autres pesticides organochlorés, HCH (hexachlorocyclohexane) et dieldrine, s'éloignent du seuil de détection. Leur devenir est une préoccupation marginale.

Une valorisation des résultats obtenus

Compte tenu de la crise environnementale que provoque la pollution des sols, des eaux et des "racines" par le chlordécone aux Antilles, les résultats sont communiqués aux acteurs concernés par les conséquences des applications de produits pesticides, GREPP en Guadeloupe, et GREPHY en Martinique, animés par les services extérieurs de l'Etat en coordination (DAF, DIREN, DSDS, DCCRF), à la mission interministérielle chargée de l'évaluation et du renforcement des actions engagées et à la mission d'information parlementaire chargée d'établir l'historique de la crise et d'évaluer les moyens pour y remédier.

CARACTÉRISATION DU RISQUE DE CONTAMINATION DE LA NAPPE DE BEAUCE PAR LES PESTICIDES :

Etude des mécanismes du transport préférentiel, approche spatiale du risque à l'échelle du bassin hydrologique

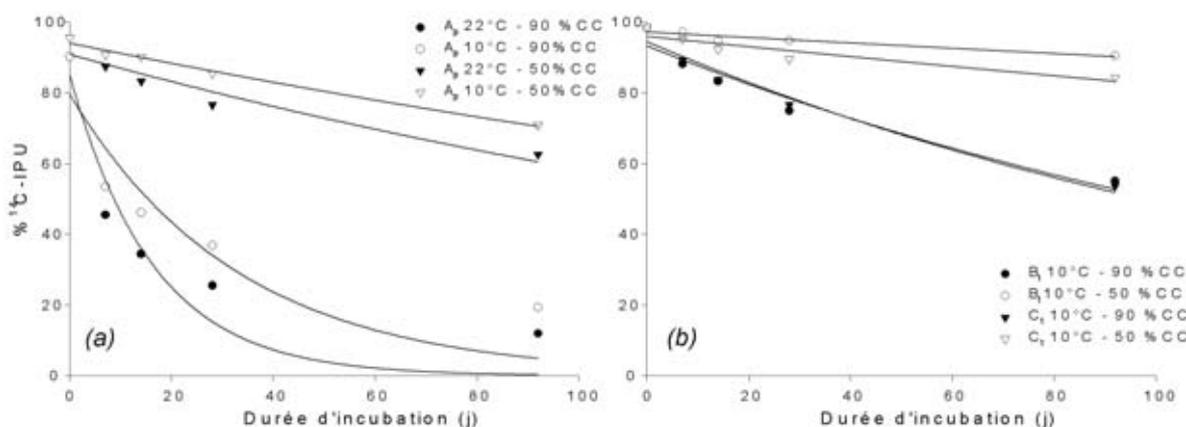
L'objectif est de caractériser les mécanismes des pollutions diffuses de la nappe de Beauce par les pesticides d'origine agricole. Ceci implique une compréhension des mécanismes

de dissipation des pesticides dans les sols de Beauce et d'intégrer la variabilité de ces processus de dissipation en relation avec l'organisation spatiale des sols et des pratiques agricoles. Cette approche est appliquée au bassin hydrologique de Ouarville (2500 ha).

Des résultats intermédiaires intéressants

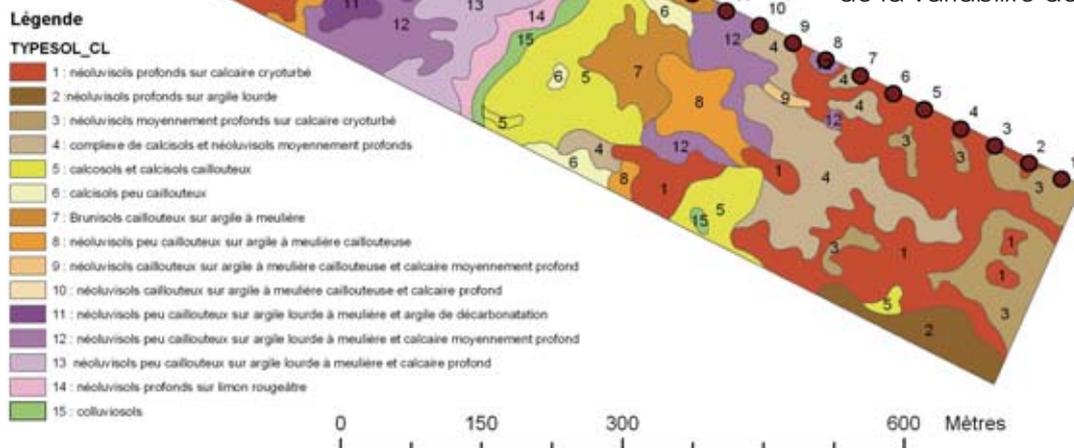
Les recherches sont organisées autour de deux axes (i) étude des mécanismes de dissipation de l'isoproturon présent dans la nappe de Beauce et (ii) analyse de l'hétérogénéité spatiale de la couverture pédologique à l'échelle de parcellaire (25 ha) et du bassin hydrologique. Les premiers résultats montrent que le transport préférentiel peut conduire à un déplacement rapide des solutés vers la profondeur. Ce type de transport n'est pas décrit dans les modèles de dissipation des pesticides couramment utilisés (PRZM, PEARL...).

La vitesse de dégradation de l'isoproturon est très variable en fonction de la profondeur, et de la teneur en eau et de la température de l'horizon. Le temps de demi-vie de dégradation (DT50) est d'environ 10 jours dans l'horizon de surface alors qu'il est supérieur à 100 jours dans les horizons plus profonds.



Cinétiques de dégradation de l'isoproturon au laboratoire pour trois horizons d'un même profil de sol (horizon Ap de surface, horizons Bt et C1 de subsurface), en fonction de la teneur en eau et de la température du sol.

L'analyse de la variabilité spatiale des sols a été réalisée à l'échelle parcellaire. Différents outils d'étude spatiale des sols (prospection pédologique, mesures géophysiques, télédétection) ont mis en évidence une hétérogénéité spatiale métrique à décamétrique de la couverture pédologique. Une carte à grande échelle des sols a été établie. Elle servira de base à une approche spatiale du risque de lixiviation des pesticides, fondée sur une description pédologique de la variabilité des sols.



Carte de la variabilité intra-parcellaire des sols du bassin d'alimentation de Ouarville



APR 1999

APPROCHE CINÉTIQUE DE LA STABILISATION DE PESTICIDES DANS LES SOLS SOUS FORME DE RÉSIDUS NON FACILEMENT EXTRACTIBLES :

CONSÉQUENCES SUR L'ACCUMULATION ET LA LIBÉRATION DIFFÉRÉE DES PESTICIDES STABILISÉS

**COORDINATEUR
SCIENTIFIQUE :**

Enrique BARRIUSO

UMR INRA – INA-PG
« Environnement et
Grandes Cultures »,

78850 Thiverval-
Grignon

Tél. 01 30 81 53 05
barriuso@grignon.inra.fr

La plupart des processus impliqués dans la rétention de pesticides par les sols sont évolutifs, avec des modifications sensibles en fonction du temps de résidence du pesticide dans le sol. Ceci se traduit par l'incomplète réversibilité des phénomènes de rétention, avec la diminution de l'extractibilité des pesticides ou de leurs résidus avec le temps. Cette évolution correspond à la stabilisation des résidus, ce qui provoque une diminution de leur mobilité et un ralentissement de leur dégradation. Ceci culmine avec la formation de résidus de pesticide non (ou difficilement) extractibles, appelés "résidus liés". L'apparition de "résidus liés" est le plus souvent considérée comme un des processus de dissipation contribuant à l'élimination du pesticide ou à la détoxification du sol. La plupart des molécules organiques sont susceptibles de former des "résidus liés" dans les sols avec des taux variables, mais pouvant représenter jusqu'à 90 % des quantités initialement appliquées.

La non extractibilité des résidus des pesticides est expliquée par différentes hypothèses mais toutes font intervenir des mécanismes d'interaction entre les pesticides ou leurs métabolites et les matières organiques des sols. Ces interactions peuvent être regroupées en deux grandes catégories : celles qui font appel à l'établissement de liaisons chimiques et celles correspondant au piégeage physique dans la microporosité colloïdale des composés humiques. Par ailleurs, la biomasse microbienne constitue un compartiment supplémentaire à considérer car elle est un lieu de stockage de résidus liés et elle intervient pour partie dans la régulation des flux entre les autres compartiments et dans la remobilisation des résidus liés.

De nombreux résultats dans la littérature montrent qu'il y a une relation directe entre l'activité microbienne des sols et le taux de formation des résidus liés pour un pesticide donné. Nous avons montré, pour les deux pesticides étudiés, que la répartition de la radioactivité provenant des pesticides entre des fractions séparées en fonction de leur extractibilité évolue très rapidement : une diminution de la disponibilité des résidus est mise en évidence par la diminution de la proportion des résidus extractibles, avec une augmentation progressive de la part des résidus non extractibles.

La contribution quantitative du compartiment biomasse microbienne aux résidus liés peut être estimée à l'aide des techniques de fumigation utilisées pour la mesure du carbone et de l'azote total de la biomasse. L'application de ces techniques à des sols ayant été incubés avec des ^{14}C - pesticides permet d'estimer le pourcentage de ^{14}C , incorporé dans la biomasse. Les résultats ont montré que dans le cas de l'atrazine et de l'isoproturon, la part du ^{14}C incorporé varie entre 1 et 6 % de la radioactivité initiale apportée. En supposant que ce ^{14}C incorporé dans la biomasse microbienne constitue la composante microbienne des résidus liés, on peut estimer que les résidus associés à la biomasse microbienne contribuent entre

3 et 14 % aux résidus liés totaux. Une partie de ces résidus sont incorporés dans les constituants biochimiques des cellules microbiennes (lipides, glucides, protéines).

La matière organique des sols est le constituant des sols jouant le rôle le plus important dans la formation des résidus liés. C'est la raison pour laquelle nous avons emprunté des techniques utilisées pour l'étude de la matière organique des sols pour la caractérisation et la quantification de l'importance relative des mécanismes de liaison chimique et de piégeage physique dans la formation des résidus liés. Ainsi, la solubilisation des matières organiques (composés humiques) en milieu alcalin permet la mise en solution d'une partie des résidus liés, initialement non extractibles. Au cours de ces extractions, le fractionnement chimique des produits solubilisés, suivi de l'analyse chromatographique, permet d'émettre des hypothèses sur l'état initial des résidus liés. La part de la radioactivité analysable et identifiable chromatographiquement est considérée comme des résidus liés par des interactions physiques, la dispersion des colloïdes organiques en milieu alcalin ayant libéré ces résidus. Par contre, la part de la radioactivité solubilisée, mais non analysable, restant associée à des composés organiques (humiques) extraits du sol, est considérée comme la part des résidus liés par l'intermédiaire des liaisons chimiques. Ceci peut être démontré par l'application de techniques hydrolytiques permettant de libérer une partie de ces résidus. Nous avons ainsi identifié autour de 30 % des résidus liés comme étant des composés chimiques très proches de l'atrazine. Par ailleurs, entre 50 et 60 % des résidus liés sont formés probablement par piégeage physique dans des macromolécules humiques. Ce type de résultat permet d'attirer l'attention sur les conséquences des mécanismes impliqués dans la formation des résidus liés. En effet, on peut s'attendre à ce que les résidus formés par l'intermédiaire des liaisons chimiques soient plus stables dans le temps, tandis que les interactions physiques auront un degré de réversibilité supérieur en fonction des modifications de l'environnement physico-chimique.

Tous les pesticides forment dans le sol des résidus liés dans des pourcentages variables en fonction de leur nature chimique et des conditions expérimentales d'incubation. La figure 1 montre les pourcentages des résidus liés pour une série de pesticides obtenus après des incubations de 100 jours à 20°C. On y constate que pour un pesticide donné, on peut avoir des fourchettes de variation importantes qui seront surtout liées au type de sol utilisé pour les incubations. Néanmoins, on assiste à une gradation des taux allant, dans cet exemple, de quelques pourcents pour la pendiméthaline, à plus de 70 % pour le métalaxyl ou le phenmedipham.

% résidus liés à 100 j d'incubation

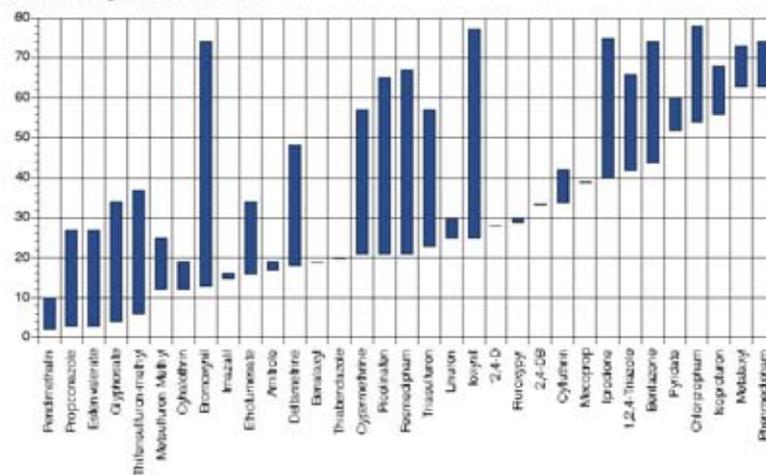


Figure 1 : Pourcentages de résidus liés formés à 100 jours à 20°C (Données provenant de <http://europa.eu.int/>)

Les facteurs environnementaux affectant la formation des résidus liés sont en relation directe avec les facteurs favorisant l'activité biologique des sols (température, humidité) et avec la teneur de la matière organique des sols. Pour certains pesticides, on a pu mettre en évidence une relation entre la nature de cette matière organique et les taux de résidus liés. C'est le cas par exemple de l'atrazine qui forme relativement plus de résidus liés avec des matières peu humifiées. Mais ce type de résultat n'est pas généralisable, il est très

dépendant du mécanisme de formation des résidus liés. Ainsi pour l'isoproturon, c'est la matière organique humifiée qui est la plus réactive vis-à-vis de la formation de résidus liés de cet herbicide.

D'un point de vue moléculaire, les pesticides ou leurs métabolites présentant des groupes chimiquement réactifs, type aniline ou chlorophénol, ont tendance à former une plus large proportion de résidus liés. En revanche, les molécules comportant un nombre élevé de substituants électronégatifs (halogènes, par exemple) ont tendance à former moins de résidus liés que de molécules structurellement proches mais avec moins de substituants. Le caractère électronégatif des substituants va induire des modifications des propriétés qui sont liées à la distribution électronique au sein des orbitales moléculaires.

Toute pratique agricole modifiant les facteurs intervenant directement ou indirectement dans le devenir des pesticides aura une incidence dans la formation des résidus liés des pesticides. Il peut s'agir des modifications de l'activité biologique impliquée dans la transformation des pesticides, ou des modifications de la matière organique des sols. Un exemple de modification d'une activité biologique spécifique intéressant la dégradation des pesticides est souvent rencontré lors d'applications répétées d'un pesticide sur un même sol. Cela peut provoquer l'induction d'activités microbiennes spécialisées capables de dégrader rapidement le pesticide. Dans des sols traités annuellement avec de l'atrazine (monoculture de maïs par exemple), la minéralisation de l'herbicide est très rapide et le taux de résidus liés est très bas. Au contraire, dans les sols ne recevant pas d'atrazine (monoculture de blé ou prairie permanente), l'herbicide se minéralise lentement, mais la proportion des résidus liés est beaucoup plus importante. Les concentrations d'atrazine sont toujours plus importantes dans les sols issus des parcelles non traitées avec de l'atrazine, mais la différence la plus importante, par rapport à la parcelle sous monoculture de maïs est l'apparente compétition entre les deux voies de dissipation : la minéralisation et la formation des résidus liés.

L'évaluation des risques associés aux résidus liés passe par l'acquisition de trois type d'informations : (1) nature chimique des résidus, (2) quantité de résidus, et (3) cinétiques d'évolution (remobilisation). Nous avons mis en évidence qu'une partie des résidus liés correspondent bien à la molécule mère et à des métabolites proches. Ce type d'information a été acquise pour l'atrazine et on ne peut évidemment pas l'extrapoler à d'autres pesticides. En particulier, dans le cas de l'isoproturon on sait que les mécanismes de formation des résidus liés impliquent une contribution importante de la réactivité chimique des métabolites (anilines). La composante «réactivité chimique» dans la formation des résidus liés

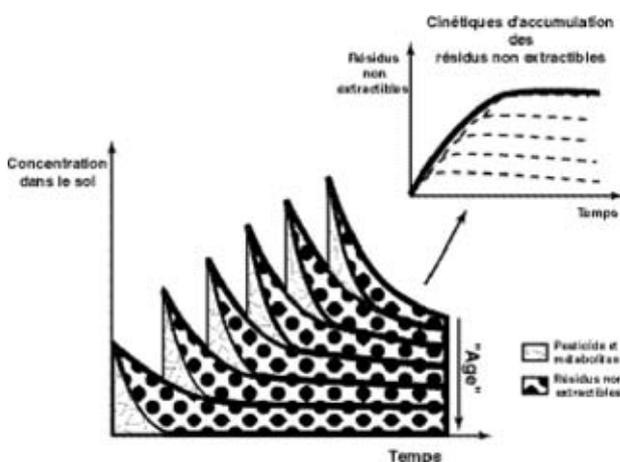


Figure 2 : L'application répétée de pesticides provoque l'accumulation des résidus non extractibles. Les cinétiques d'évolution de chaque apport peuvent être individualisées, permettant de rendre compte d'une accumulation de résidus d'âges hétérogènes. En fonction des cinétiques de dégradation de chaque pool de résidus non extractibles, une cinétique globale d'accumulation peut être approchée, qui en théorie doit tendre vers un palier d'accumulation.

d'isoproturon sera beaucoup plus importante que pour l'atrazine, dont la composante physico-chimique dans la formation des résidus liés a été estimée entre 50 et 60 % des résidus. C'est cela qui peut expliquer que les constantes de vitesse caractérisant les flux de remobilisation des résidus liés d'isoproturon, estimées à partir des modèles à compartiments sont toujours plus faibles que les constantes de remobilisation des résidus d'atrazine.

La plupart des expériences réalisées pour l'étude des résidus liés sont basées sur des incubations de courte durée en conditions contrôlées de laboratoire. L'utilisation des données obtenues au laboratoire sur les résidus liés, pour interpréter des situations réelles, se trouve confrontée au manque de références expérimentales en conditions de plein champ. Les expériences réalisées ici

d'une durée importante et dans des conditions proches du terrain (simulation en colonnes, climat naturel), permettent en partie la validation des résultats de laboratoire, en apportant des éléments de réponse aux interrogations qui se posent sur le devenir des résidus liés : nature des résidus, (bio)disponibilité, accumulation lors des applications répétées. Ce projet a précisé d'une manière quantitative les cinétiques de formation des "résidus liés". L'originalité de ce projet a été d'étudier le cadre d'une situation «multi-applications». Ceci est schématisé dans la figure 2. Au cours des applications répétées on peut supposer l'évolution individualisée de chaque apport de pesticide, avec la formation des "résidus liés" correspondants.

Dans un contexte d'applications répétées, et sans modification de la dynamique propre des résidus liés, il faut s'attendre à l'accumulation des résidus liés jusqu'à un plateau, dont le niveau de concentration sera la résultante de l'équilibre cinétique entre la formation et la dégradation des résidus liés. Néanmoins, la conséquence la plus significative des applications répétées de pesticides est, pour certains d'entre-eux, l'induction d'une activité biologique des sols spécialisée dans leur dégradation. Le résultat est une dégradation rapide du pesticide allant jusqu'à sa minéralisation, avec une diminution importante de sa persistance et du nombre d'intermédiaires (métabolites) restant dans le sol. Cette dégradation rapide rentre en compétition avec des phénomènes souvent plus lents responsables de la formation des résidus liés : les résidus ainsi minéralisés ne participeront pas à la formation des résidus liés, et leur taux diminuera.

L'approche compartimentale de la modélisation du devenir des pesticides nous a permis d'identifier et de classer par importance relative les flux les plus significatifs. C'est ainsi que nous avons pu démontrer que les résidus liés se forment à partir des résidus extractibles avec un solvant (méthanol). Mais l'interprétation des données expérimentales au travers de la modélisation met en évidence une formation rapide de résidus liés à partir des résidus hydrosolubles, a priori les plus disponibles dans les sols. Ce point est probablement en connexion avec le rôle de la biomasse microbienne qui constitue en soi un compartiment de stockage de résidus liés (autour de 10 % des résidus liés totaux). Mais cette biomasse microbienne est aussi un compartiment de transit et d'activation chimique par la formation de métabolites intermédiaires plus réactifs que la molécule mère. Les meilleurs ajustements des modèles aux données expérimentales sont obtenus en considérant comme négligeable la minéralisation directe des résidus liés. Leur libération passe forcément par leur passage par des compartiments extractibles.

Les modèles à compartiments utilisés permettent d'estimer les constantes des flux de remobilisation des résidus liés. Il s'agit de l'ensemble des flux partant des compartiments «résidus non extractibles» vers d'autres compartiments du système. Les constantes ainsi estimées sont plus élevées pour l'atrazine que pour l'isoproturon. Cela veut dire que les résidus liés d'atrazine sont plus facilement remobilisables que ceux d'isoproturon. Ces constantes sont systématiquement plus faibles dans le sol acide (NB) que dans les sols calciques (GM et GB). Dans les sols calciques, l'induction d'une activité biologique spécifique capable de dégrader rapidement l'atrazine se traduit par une augmentation des constantes de remobilisation des résidus liés d'atrazine. Cela voudrait dire que les microorganismes ainsi activés sont capables de s'attaquer à des résidus a priori peu ou non disponibles.

Les constantes de vitesse de remobilisation peuvent être converties en première approximation en valeurs de durée de demi-vie (DT50). On montre ainsi que les DT50 des résidus liés peuvent être relativement faibles dans les sols avec une activité biologique spécifique de dégradation des pesticides (DT50 inférieures à 1 mois). Mais dans ces sols, la quantité totale des résidus liés est limitée. Par contre dans d'autres sols, en particulier dans le sol brun acide (NB), et surtout pour l'isoproturon, les DT50 des résidus liés sont supérieures à un 1 an. Cette persistance élevée explique les risques d'accumulation de ce type de résidus. Les valeurs des constantes de remobilisation calculées peuvent être utilisées pour réaliser des estimations de risque de remobilisation en faisant des hypothèses de stock des résidus liés en fonction des applications répétées d'un pesticide donné et selon des scénarios d'application à définir. Néanmoins, l'utilisation de ces résultats se trouve confrontée à la difficulté de généralisation des données acquises pour un pesticide pour leur application à d'autres pesticides, et/ou à d'autres sols.

- UMR INRA-INA-PG «Environnement et Grandes Cultures» - Grignon :
M. Edzang-Ondo, V. Bergheaud, P. Benoit, N. Cohen, B. Gabrielle, C. Labat, P. Vachier
- UMR INRA-ENSAIA «Sols et Environnement» - Nancy :
M. Schiavon, C. Perrin-Ganier

PUBLICATIONS et VALORISATIONS

- Barriuso E., Koskinen W.C., Sadowsky M.J. - 2004 - Solvent extraction characterization of bioavailability of atrazine residues in soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 6552-6556.
- Barriuso E., Benoit P., Dignac M.F. - 2005 - Rôle des résidus liés dans le devenir des produits xénobiotiques. *Comptes Rendus de l'Académie d'Agriculture*, 24/11/2004.
- Barriuso E., Benoit P., Charnay M.P., Coquet Y., Louchart X., Schiavon M., Aurousseau p. - 2005 - Pollutions organiques diffuses : mobilité et persistance des polluants organiques dans les sols. In: "Sols et Environnement", Girard M.C., Walter C., Rémy J.C., Berthelin J., Morel J.L. (eds.), Dunod, Paris, chap. 18.
- Charnay M.P., Mougou C., Farrugia A., Barriuso E. - 2004 - Incorporation of pesticides by soil micro-organisms as a way of bound residues formation. *Environmental Chemistry Letters*, 2, 1, 27-30.
- Cherrier R., Lapole D., Perrin-Ganier C., Schiavon M. - 2003 - Dégradation et potentiel polluant d'un produit phytosanitaire : l'atrazine », *Déchets Sciences et Techniques*, juin 2003.
- Cherrier R., Boivin A., Schiavon M. - 2004 - Comparison of the leaching behaviour of two maize herbicides: atrazine and sulcotrione. *Agronomie* (acceptée).
- Edzang-Ondo M. Approche cinétique de la stabilisation de pesticides dans les sols sous forme de résidus liés : conséquences sur l'accumulation et la libération différée des pesticides stabilisés. Thèse INA P-G, prévue novembre 2005.
- Loiseau L., Barriuso E. - 2002 - Characterization of the atrazine's bound (nonextractable) residues using fractionation techniques for soil organic matter. *Environmental Science and Technology*, 36, 683-689.
- Loiseau L., Zegouagh Y., Bardoux G., Barriuso E., Derenne S., Mariotti A., Chenu C., Largeau C. - 2002 - Etude du devenir de l'atrazine dans des sols limono-argileux du bassin Parisien par la combinaison de méthodes isotopiques et pyrolytiques. *Bulletin de la Société Géologique de France*, 173, 271-279.
- Novak S., Portal J.-M., Schiavon M. - 2001 - Influence of soil aggregate size on atrazine and trifluralin leaching. *Bulletin Environmental Contamination Toxicology* 66, 514-521
- Novak S., Banton O., Schiavon M. - 2003 - Modelling metolachlor exports in subsurface drainage water from two structured soils under maize (eastern France). *Journal of Hydrology*, 270, 295-308
- Schiavon M., Barriuso E. - 2005 - Le devenir des produits phytosanitaires dans le sol et l'environnement: rétention, dégradation et dissipation. In: "Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement du XXI^e siècle", Regnault-Roger C. (ed.), Lavoisier Tec et Doc, Paris, chap. 6.

AUTRES TYPES DE VALORISATION

- Barriuso E. - 2001 - Impacts des pratiques agricoles sur le fonctionnement des sols: utilisation de produits phytosanitaires. Colloque "Le sol, un milieu fragile", Paris, 14-16/11/2001, 2 p.
- Barriuso E. - 2002 - La pollution des sols par les micropolluants organiques. Ministère de l'Environnement, Forum "Qualité des sols", Paris, 15-16/05/2002, 3 p. (conférence invitée, résumé).

- Barriuso E., Bedos C., Benoit P., Bergheau V., Charnay M.P., Coquet Y., Pot V., Rousseau M.F., Le Bissonnais Y. - 2002 - Mesures de la mobilité et de la persistance des pesticides dans les sols pour l'évaluation des risques. Salon international Pollutec, Lyon, France, 26-29 septembre.
- Barriuso E. - 2003 - Réactivité des matières organiques et interactions avec les polluants organiques. In: "La matière organique naturelle", 5e Colloque, Groupe Français de l'International Humic Substances Society, Clermont-Ferrand, 26-28/03/2003 (conférence invitée).
- Barriuso E. - 2003 - Approche cinétique de la stabilisation de pesticides dans les sols sous forme de résidus non facilement extractibles: Conséquences sur l'accumulation et la libération différée des pesticides stabilisés. Séminaire du programme "Evaluation et réduction des risques liés à l'utilisation des pesticides", Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable, Rennes, 2003.
- Barriuso E., Benoit P. - 2003 - Experimental approaches to analyze the role of soil organic matter on pesticides behavior: application of fractionation techniques. In: "Pesticide in air, plant, soil and water system", Del Re A.A.M., Capri E., Padovani L., Trevisan M. (eds.), XII Symposium on Pesticide Chemistry, Piacenza (ITA), 2003/06/04-06, 193-202 (conférence invitée).
- Barriuso E. - 2003 - Líneas de investigación sobre el comportamiento medio ambiental de agroquímicos en Francia y al INRA. Seminario, INTA de Balcarce (ARG), 2003.
- Barriuso E. - 2003 - Réactivité des matières organiques et interactions avec les polluants organiques In: "La matière organique naturelle", 5. Colloque, Groupe Français de l'International Humic Substances Society, Clermont-Ferrand, 26-28/03/2003, 1 p. (conférence invitée).
- Barriuso E. - 2004 - Methods and equipments to study pesticides behavior in the environment. CHEMRAWN XV, 21-23/06/2004, Paris (conférence invitée).
- Barriuso E., Koskinen W.C., Sadowsky M.J. - 2004 - Characterization of triazine residue bioavailability in soil by sequential solvent extraction. In: "Pesticides, soil microbiology, microbial functions and diversity", 4. International Symposium on environmental aspects of pesticide microbiology, Society of Environmental Toxicology and Chemistry, Thessaloniki (GRC), 04-09/09/2004, 32-33 (abstract).
- Barriuso E., Bourgeois S. - 2004 - Micropolluants organiques et minéraux. Module optionnel 30 heures, Master Sciences et Technologies du Vivant (Paris VI, INA-PG, ENS).
- Charnay M.P., Mouglin C., Farrugia A., Barriuso E. - 2003 - Importance of soil microorganisms in the formation of non-extractable pesticide residues. European Meeting on Environmental Chemistry, Plymouth (GBR), 2003 (oral communication).
- Cherrier R., Perrin-Ganier C., Schiavon M. - 2003 - Compared leaching risk of atrazine and other maize herbicide (sulcotrione). Unicum Colloquium XXXIII ème Congrès du GFP (Groupe Français des pesticides)-3 ème Symposium du Mediterranean Group of Pesticide Research, 20-24 mai 2003, Aix en Provence.
- Dignac M.F., Zegouagh Y., Loiseau L., Bardoux G., Barriuso E., Largeau C., Derenne S., Mariotti A. - 2002 - Pyrolytic study of the non-extractable residues of ¹³C-atrazine in soil size fractions and soil humin. IHSS 11. International Conference, 21-26/07/2002, Boston (USA), 140-142.
- Loiseau L., Barriuso E. - 2001 - Identification of entrapped and covalently bound residues of atrazine using physical and chemical fractionation. 2nd European Meeting on Environmental Chemistry, Dijon, 12-15/12/2001.
- Loiseau L., Barriuso E., Largeau C., Derenne S., Zegouagh Y., Bardoux G., Mariotti A. - 2001 - Characterisation of the bound residues of atrazine and the mechanisms involved in their formation. 20th International Meeting on Organic Geochemistry, Nancy, 9-14/09/2001.



APR 1999

**RÔLE DES AMÉNAGEMENTS D'ORIGINE ANTHROPIQUE
(dispositifs enherbés et fossés) DANS LE TRANSFERT ET LA DISSIPATION
DES PRODUITS PHYTOSANITAIRES EN BASSIN VERSANT AGRICOLE.
MODÉLISATION EN VUE D'APPRÉCIER LES EFFETS DES AMÉNAGEMENTS ET
DES PRATIQUES AGRICOLES SUR LA CONTAMINATION DES EAUX DE SURFACE.**

**COORDINATEUR
SCIENTIFIQUE :**

Nadia CARLUER

UR Cemagref
Qualité de l'Eau
et Prévention
des Pollutions

69336 Lyon Cedex

Tél. 04 72 20 87 12
nadia.carluer@cemagref.fr

OBJECTIFS DU PROGRAMME

L'objectif majeur de ce programme était de comprendre et quantifier les phénomènes de rétention, de dégradation ou de transfert des produits phytosanitaires entre la parcelle agricole et le milieu aquatique. L'étude a porté notamment sur les discontinuités hydrologiques que constituent les fossés et les dispositifs enherbés ou boisés. Ces structures ont fait l'objet de suivis en continu et d'expériences spécifiques, afin d'y analyser le devenir des produits phytosanitaires, sur trois bassins versants aux caractéristiques différentes : La Jaillière (44) et le Naizin (56) d'une part et Roujan (34) d'autre part. Il s'agissait d'identifier les facteurs clés déterminant leur efficacité tampon (position dans le versant, caractéristiques du sol ou de la végétation, alternance des conditions d'oxydo-réduction) et de proposer une modélisation locale du fonctionnement de ces structures. Ces dernières devaient ensuite être intégrées dans un modèle fonctionnant à l'échelle du bassin versant afin de tester des scénarios d'aménagement et de modifications de pratiques conduisant à une hiérarchisation des situations potentiellement à risque sur un bassin.

Dans le cadre de plans d'action mis en œuvre localement, l'objectif opérationnel principal était d'aboutir à une méthode de diagnostic du risque de contamination des eaux par les phytosanitaires à l'échelle d'un petit bassin versant rural, permettant de déboucher sur la préconisation de solutions correctives pertinentes.

MOTS CLÉS

Zones tampon, dispositifs enherbés, dispositifs boisés, fossés, rétention, dégradation, transfert, nappe superficielle, typologie, modèle distribué, modèle qualitatif.

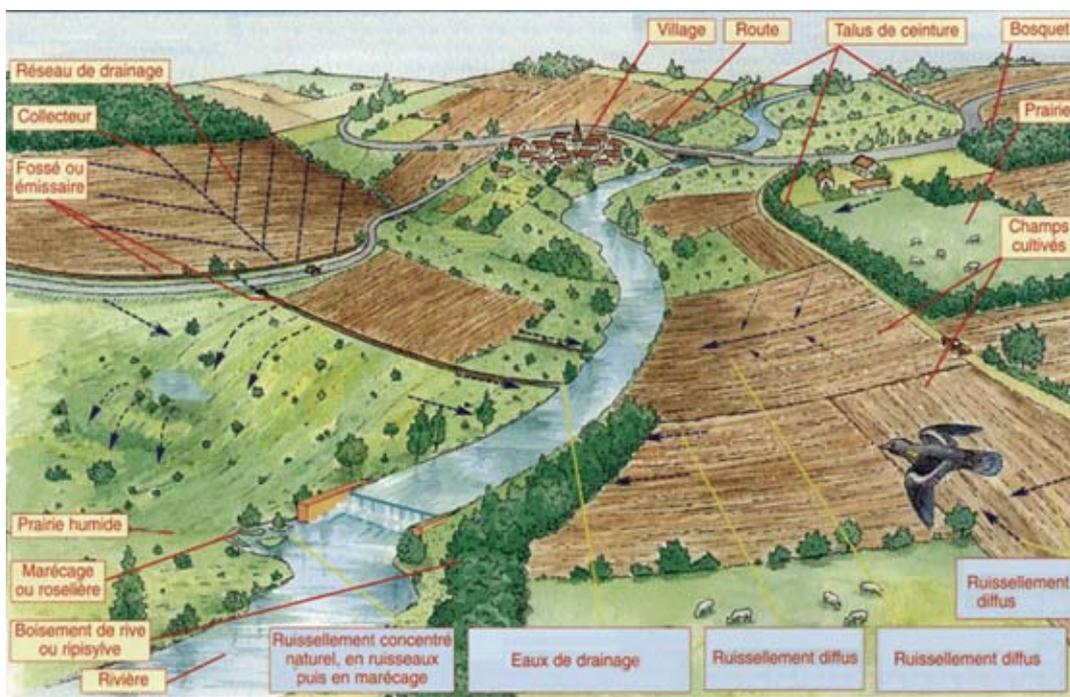
RÉSULTATS, PRINCIPAUX ACQUIS ET PERSPECTIVES

Les travaux ont porté essentiellement sur les dispositifs enherbés et boisés d'une part, et les fossés d'autre part. Les connaissances et savoirs-faire relatifs à ces deux types d'éléments «interstitiels» du paysage n'étaient pas au même stade opérationnel au début du projet, ce qui s'est traduit par des résultats de nature différente pour ces deux types d'objets. Pour les dispositifs enherbés et boisés, des connaissances existaient déjà, que ce soit au niveau national, européen ou américain, et les avancées réalisées dans le cadre de ce programme ont ainsi pu contribuer à la rédaction de recommandations pratiques à l'adresse de la Direction Générale de la Forêt et des Affaires Rurales du MAAPR et de la Direction de l'Eau du MEDD, et destinées à servir de base à une réactualisation du guide du CORPEN de 1997. Pour les fossés, leur rôle dans le transfert et la dissipation des

phytosanitaires n'avait pratiquement pas été abordé lors de la mise en place du programme, et les résultats acquis ici, bien que très prometteurs, en sont encore à un stade préparatoire du point de vue opérationnel. De même, les travaux sur le rôle des nappes peu profondes dans le transfert des phytosanitaires étaient jusqu'alors peu nombreux, et les résultats obtenus ont permis sa caractérisation et un début de quantification.

Notons enfin que, pour être exhaustifs, les travaux développés ici mériteraient d'être complétés par des travaux similaires sur les autres éléments «interstitiels» du paysage, comme les haies et les talus, les routes, mais aussi les lagunes, les retenues collinaires ou les parcelles drainées par tuyaux enterrés.

Les résultats ainsi acquis pourraient alors non seulement permettre une approche intégrée de diagnostic, de préconisation de solutions correctives et de tests de scénarios à l'échelle du bassin versant, mais aussi, par une voie qui reste à concrétiser, contribuer au suivi post-homologation des molécules phytosanitaires. Par ailleurs, compte tenu des similitudes de comportement de certains produits vétérinaires avec les pesticides, l'extrapolation des résultats de ce programme devrait être envisagée car ces produits vétérinaires constituent aujourd'hui un problème émergent d'importance pour la qualité des milieux aquatiques.



Eléments du paysages dans un bassin versant rural.

DÉTAILS PAR AXE

Du point de vue de la démarche, les travaux sont articulés autour de quatre axes complémentaires, dont nous détaillons les principaux acquis axe par axe :

- Le premier axe consistait en l'élaboration d'une **typologie des discontinuités hydrologiques**, en se limitant ici aux fossés. Il a permis d'analyser, décrire et formaliser la triple fonction de collecte, transfert et dissipation des fossés. Cette étape a abouti à la définition d'indicateurs synthétiques, relatifs d'une part à chacune de ces fonctions, d'autre part à leur conjonction. Ces indicateurs permettent de caractériser soit des biefs au sein d'un réseau, soit un réseau dans son ensemble pour comparaison avec un autre bassin. Cette typologie a été mise en oeuvre sur trois bassins très différents du point de vue de leur géomorphologie et de l'occupation de leurs sols (Cétrais - 44 -, Roujan - 54 - et Morcille - 69 -), démontrant ainsi la généricité de la méthode.

A ce stade de développement, la méthode peut servir de guide, par exemple pour

réaliser un pré-diagnostic et sélectionner des zones d'étude plus ciblées ; il serait toutefois hasardeux pour l'instant de l'utiliser pour l'aide à la décision. En effet, si la structure de la démarche et des indicateurs développés sont déjà opérationnels (cette partie du travail a donné lieu à un rapport destiné à la Direction de l'Eau du MEDD), les fonctions qui les constituent restent à valider et à affiner, au fur et à mesure de l'avancée des connaissances. Par ailleurs, les indicateurs proposés pour l'instant privilégient la caractérisation événementielle des fossés, et ne permettent pas de tenir compte des phénomènes advenant à plus long terme, comme la dégradation des phytosanitaires ou leur relargage après adsorption. Ces indicateurs «de court terme» devraient donc être complétés par des indicateurs permettant de caractériser des biefs ou des réseaux à l'échelle saisonnière : ce point suppose de mettre en place des suivis in situ à long terme.

Notons enfin que, si le travail s'est pour l'instant restreint aux fossés et autres voies potentielles d'écoulements concentrés, comme les chemins, routes, buses ..., il pose les bases pour une extension aux autres types d'aménagements anthropiques et, plus généralement, pour une typologie des paysages à l'échelle du petit bassin, prenant en compte l'organisation spatiale du parcellaire et des autres types d'interfaces, comme les dispositifs enherbés ou boisés, ou les divers types de zones tampons humides. Un tel outil de diagnostic permettrait d'appréhender non seulement l'influence de la structure du paysage sur le devenir des phytosanitaires, mais aussi d'autres aspects comme la biodiversité ou les aménités liées aux éléments «interstitiels» du paysage rural.

- Le deuxième axe visait à analyser le fonctionnement hydrologique et hydrochimique des discontinuités hydrologiques (fossés et dispositifs enherbés et boisés), en fonction de leurs caractéristiques propres et de celles du bassin versant sur lequel elles se situent (dynamique des nappes et évolution de leurs caractéristiques géochimiques notamment).

Les travaux ont confirmé le rôle majeur de l'infiltration dans l'efficacité de ces deux types de structure dans la dissipation des phytosanitaires. Dans le cas d'une infiltration nulle ou réduite, l'efficacité n'est significative que pour les molécules à fort pouvoir adsorbant, c'est à dire en première approche à fort K_{oc} . L'efficacité d'une bande enherbée ou d'un fossé est alors fortement liée à la teneur du matériau de surface (substrat du lit pour un fossé, mât racinaire pour une bande enherbée) en matières organiques, les matières organiques particulaires -correspondant à des matériaux relativement peu dégradés- étant les plus efficaces en terme de rétention. La rapidité des phénomènes mis en jeu lors d'un épisode pluvieux met en évidence l'importance des cinétiques couplées d'adsorption et de désorption, qui peuvent moduler significativement les résultats attendus au seul vu des isothermes d'adsorption.

Enfin, le fait que l'efficacité «dissipatrice» de ces structures soit essentiellement liée à l'infiltration pose avec acuité la question du devenir des produits infiltrés : vont-ils rejoindre une nappe plus profonde où la probabilité qu'ils soient dégradés est faible ? Rejoignent-ils le cours d'eau par écoulement subsurface rapide, ou sont-ils adsorbés puis dégradés ou transformés en résidus liés ?

Là encore, qu'il s'agisse des produits adsorbés à la surface ou infiltrés, il conviendrait de dépasser l'approche événementielle, en tenant compte des phénomènes de dégradation et de relargage, qui n'ont pour l'instant été abordés que de façon partielle.

Si l'on aborde maintenant les apports relatifs spécifiquement à chaque type de structure :

- Les travaux sur les dispositifs enherbés et boisés ont confirmé qu'ils sont en général efficaces, avec une efficacité réelle pour tous les types de molécules dans les cas où l'infiltration est prépondérante, sinon limitée aux produits à fort K_{oc} . D'un point de vue opérationnel, la prépondérance du phénomène d'infiltration dans l'efficacité

des BE ou BB induit deux difficultés : **1/** le positionnement systématique de ces structures en bordure de cours d'eau n'est pas nécessairement le plus adapté, compte tenu du caractère souvent humide de ces zones (infiltration nulle ou réduite) et de la possibilité pour les phytosanitaires infiltrés de rejoindre rapidement le cours d'eau par écoulement subsurfacique (bien entendu ceci vaut pour les transferts hydriques et non pour la dérive de pulvérisation) ; **2/** la concentration des écoulements au sein d'un dispositif tampon (liée à la topographie initiale ou à des phénomènes d'érosion, selon le contexte pédoclimatique) est susceptible de réduire significativement la capacité d'infiltration de la structure, et par là même son efficacité. Enfin, comme on l'a noté, le pouvoir adsorbant d'un tel dispositif tampon est en partie lié à sa teneur en matière organique : une forte teneur en matière organique permet également un plus fort potentiel de dégradation, une meilleure structuration des premières couches de sol et par là même une infiltration accrue. Elle induit par contre également des écoulements préférentiels, susceptibles de court-circuiter la couche de sol au pouvoir élevé de rétention et de dégradation.

Enfin, pour ce qui concerne le dimensionnement de ces structures, le fonctionnement d'une bande enherbée ou boisée dépend à la fois des caractéristiques intrinsèques à la bande, et des versants situés à son amont et son aval : il est donc délicat de fournir des largeurs types pour ces structures et, dans ce contexte, les règles empiriques proposées par le CORPEN (qui sont proches de celles émises par l'USDA) restent valables, en attendant de pouvoir faire mieux.

- Comme les dispositifs enherbés ou boisés, les fossés sont surtout efficaces dans la dissipation des phytosanitaires quand ils sont infiltrants. Ce peut être le cas quand il s'agit de fossés destinés à évacuer des crues (comme sur le bassin méditerranéen viticole de Roujan), avec alors la question récurrente du devenir des produits infiltrés et ayant percolé vers la nappe. Cette interrogation est moins importante quand il s'agit de fossés de drainage (ou collecteurs de réseau de drainage), qui sont par essence en contact avec la nappe pendant la principale période d'exportation des phytosanitaires, comme sur le bassin tempéré sur socle peu profond de la Jaillière. Ils sont toutefois aptes à jouer le rôle de fossés infiltrants pendant des épisodes orageux de printemps ou d'été, quand le réseau de drainage n'est plus actif.

Le pouvoir adsorbant du lit des fossés est essentiellement lié à la nature du substrat composant leur lit, et notamment sa teneur en matière organique. Un indicateur du potentiel de rétention a été mis au point, reflétant l'importance relative des différents types de substrat dans la rétention. Dans l'ordre, on observe : la matière organique en voie de dégradation –typiquement feuilles mortes-, la végétation vivante et les sédiments. Ce point met en évidence l'importance que peut avoir la stratégie d'entretien des fossés : un fauchage laissant les résidus en place est ainsi préférable à un curage régulier des fossés. D'une part il accroît la capacité de rétention du substrat, d'autre part il lui permet de s'exprimer, en accroissant les temps de contact molécules/substrat, les cinétiques d'adsorption étant loin d'être instantanées. Il permet également, dans le cas d'un fossé infiltrant, de laisser aux flux le temps de s'infiltrer. Un compromis est toutefois à trouver, au cas par cas, entre le potentiel de dissipation d'un fossé et son rôle premier d'évacuation de l'eau.

Les études menées sur la rétention des phytosanitaires par les fossés ont essentiellement concerné l'aspect événementiel (les travaux sur le plus long terme ont uniquement concerné le bassin de Roujan, où la nature du fond des fossés ne permet qu'une rétention et une dégradation faibles) et mériteraient d'être étendues au plus long terme, en prenant en compte les phénomènes de relargage et de dégradation des pesticides en leur sein.

- Compte tenu notamment de l'importance de l'infiltration dans l'efficacité des discontinuités hydrologiques à dissiper les flux de phytosanitaires rejoignant rapidement le réseau hydrographique, le programme s'est également attaché à évaluer l'influence des eaux souterraines dans le transfert et la dégradation des

produits infiltrés. Les résultats montrent que, bien que les aquifères ne contribuent guère aux pics d'exportation, liés essentiellement à des écoulements rapides, ils contribuent significativement aux flux exportés à l'échelle saisonnière, et au maintien d'un degré de contamination de base dans le réseau hydrographique, d'autant qu'une fois traversée la couche biologiquement active du sol, les capacités de dégradation et de rétention du milieu sont faibles. Plus précisément, sur le bassin de Roujan, les potentialités de biodégradation sont assez lentes et les capacités de rétention du diuron faibles dans les quelques sols étudiés où la nappe est présente, quelles que soient les conditions d'oxydo-réduction. Les études menées sur le site de la Jaillière n'ont pas abordé ces aspects de dégradation et de rétention, mais elles ont par contre permis de caractériser dans le temps et l'espace et de quantifier les échanges existants entre les deux nappes présentes sur ce site, ainsi que d'estimer les temps de transfert des produits dans la nappe : les résultats obtenus présentent de fortes similitudes avec ceux relatifs à un bassin comme le Naizin (56) et permettent de supposer une large transposabilité de ces résultats aux bassins du Grand Ouest également développés sur schiste.

- Le troisième axe visait à modéliser le rôle des discontinuités hydrologiques sur le transfert et la dissipation des polluants entre la parcelle et l'exutoire du bassin versant, d'abord à l'échelle locale des discontinuités, puis à l'échelle du bassin versant, en intégrant les modèles locaux développés dans un outil commun.

Pour ce qui concerne la modélisation à l'échelle locale, les travaux sont, dans le strict cadre du programme, restés exploratoires, ne permettant pas d'aboutir à des outils opérationnels. Les résultats issus de l'axe 2 ont par contre permis d'alimenter depuis des modèles de fonctionnement des bandes enherbées et fossés, encore en cours de développement.

Le modèle MHYDAS, spécialement développé pour prendre en compte les discontinuités hydrologiques du milieu agricole, a été retenu pour les applications à l'échelle du bassin versant. Dans un premier temps, MHYDAS a été couplé à un module simple de mélange et de transfert de polluants, représentant le transfert de polluants à l'échelle du bassin et il a permis de réaliser quelques tests de scénarios sur le bassin versant de Roujan. Cette version de MHYDAS est bien adaptée pour simuler le ruissellement par dépassement de la capacité d'infiltration du sol, processus prépondérant en climat méditerranéen ou sur les limons battants du Nord de la France. Afin d'améliorer la modélisation des processus souterrains dans MHYDAS, le modèle de ruissellement de surface a, dans un second temps, été interfacé avec un modèle 3D de transfert d'eau en milieux non saturé et saturé. Cette version, consommatrice en temps de calcul et posant encore des problèmes de stabilité numérique, n'est toutefois pas encore opérationnelle.

Par ailleurs, afin d'assurer la modularité et le caractère générique que doit respecter un tel modèle de bassin versant pour être évolutif et rester utilisable, une plateforme de modélisation orientée objet est actuellement en cours de développement. Les résultats de ce programme sont utilisés pour en concevoir certains modules, représentant de façon simplifiée l'influence de certains éléments du paysage (fossé, bande enherbée, talus-haie, parcelle drainée) sur le devenir des phytosanitaires.

Dans l'état actuel de leur développement et compte tenu du nombre de données que leur mise en œuvre exige, ces outils, à l'échelle du bassin versant, restent toutefois des outils de recherche et de connaissance, et ne sauraient dans l'immédiat être utilisés dans un but opérationnel.

- C'est en partie pour pallier à ces limitations que le quatrième axe s'était donné pour but d'élaborer une modélisation qualitative d'évaluation de la contamination des eaux à l'exutoire d'un bassin versant, au pas de temps de l'événement pluvieux, pour des

bassins versants associant des écoulements de surface (ruissellement) et de subsurface (nappe superficielle). L'outil développé, mis en œuvre sur un bassin armoricain, permet d'évaluer l'impact de différentes stratégies de maîtrise de la contamination des eaux par les phytosanitaires et aide le gestionnaire du bassin versant : (i) dans sa tâche de surveillance de la qualité de l'eau à l'exutoire en lui permettant de simuler facilement des «scénarios typiques» et d'identifier les zones à risque ; (ii) dans son rôle de conseil en lui montrant les liens entre climats / pratiques et qualité des eaux et en lui proposant des règles qualitatives de conseil sur les pratiques agricoles. Un tel outil est toutefois par nature fortement lié au type de milieu pour lequel il a été conçu. Il s'avère difficile à valider sur des variables internes au système représenté (c'est-à-dire autres que les débits et concentrations à l'exutoire) de par le fort degré conceptuel de la représentation qu'il fait des constituants du système.

PARTENAIRES

- **INRA Montpellier** ; Laboratoire de Science du Sol
- **INRA Grignon** ; Unité Environnement et Grandes Cultures
- **Cemagref Antony** ; Unité de Recherche Ouvrages pour le Drainage et l'Étanchéité
- **INRA Rennes** ; Unité Sol et Agronomie de Rennes-Quimper
- **INRA Aix en Provence** ; UR Géochimie des sols et des eaux
- **Institut de Mécanique des Fluides** ; Strasbourg
- **ARVALIS** – Institut du Végétal (Ex-ITCF)

PUBLICATIONS ET VALORISATIONS

Articles dans des revues à comité de lecture

- Benoit P., Souiller C., Madrigal I., Pot V., Réal B., Coquet Y., Margoum C., Laillet B., Dutertre A., Gril J.J., Barriuso E. 2003. Fonctions environnementales des dispositifs enherbés en vue de la gestion et de la maîtrise des impacts d'origine agricole : cas des pesticides. *Etude et Gestion des Sols*, 10, 215-228.
- Carluer N., De Marsily G. 2004. Assessment and modelling of the influence of man-made networks on the hydrology of a small watershed: implications for fast flow components, water quality and landscape management. *Journal of Hydrology*, 285: 76-95.
- Chahinian N., Moussa R., Andrieux P., Voltz M. 2003. Comparison of infiltration models to simulate flood events at the field scale. *Journal of Hydrology*, 306, 191-214.
- Heddadj, D., Gascuel-Oudou, C., 2001. Impact d'itinéraires culturaux du maïs sur les transferts d'herbicides par ruissellement. *Ingénierie*, 115-123.
- Kao C., Bouarfa S., Zimmer D. 2001. Steady state analysis of unsaturated flow above a shallow water-table aquifer drained by ditches. *Journal of Hydrology*, 250, 122-133.
- Kao C., Vernet G., Le Filleul J.M., Nedelec Y., Carluer N., Gouy V., 2002. Elaboration d'une méthode de typologie des fossés d'assainissement agricole et de leur comportement potentiel vis-à-vis des produits phytosanitaires. *Ingénierie EAT* 29, 49-65.
- Lacas J.G., Voltz M., Gouy V., Carluer N., Gril J.J.. Using grassed strips to limit pesticides transfer to surface water : a review. *Agronomie*, sous presse
- Lagacherie P., Diot O., Domange N., Gouy V., Floure C., Kao C., Moussa R., Robbez-Masson J.M., Szleper V. 2003. An indicator approach for describing the spatial variability of artificial stream networks with regard to herbicide pollution in cultivated watersheds. *Accepté dans Ecological Indicators*.

- Louchart X., Voltz M., Andrieux P., Moussa R. 2001. Herbicides transport to surface waters at field and watershed scales in a Mediterranean vineyard area. *Journal of Environmental Quality*, Vol 30, 982-991.
- Madrigal I., Benoit P., Barriuso E., Etievant V., Souiller C., Real B., Dutertre A. 2002. Capacités de stockage et d'épuration des sols de différents dispositifs enherbés vis-à-vis des produits phytosanitaires. Deuxième partie : Propriétés de rétention de deux herbicides, l'isoproturon et le diflufenicanil dans différents sols de bandes enherbées. *Etude et Gestion des Sols*. 30, 287-302.
- Margoum C., Gouy V., Williams R., Smith J., 2001. Le rôle des fosses agricoles dans la dissipation des produits phytosanitaires. *Ingénieries N° Spécial Phytosanitaires*, 55-65.
- Margoum C., Laillet B., Dramais G., Gouy V. 2003. Rétention des produits phytosanitaires dans les fossés de connexion parcelle-cours d'eau. *Revue des Sciences de l'Eau*, 16, 389-405
- Molenat, J., Gascuel-Oudou, C., 2001. Modelling flow and nitrate transport in groundwater for the prediction of water travel times and of consequences of land use evolution on water quality. *Hydrological Processes*, 16, 479-492.
- Molenat J., Gascuel-Oudou C., Davy P., Durand P. 2005. How to model shallow ground watertable depth variations: the case of the Naizin-Kervidy catchment, France. *Hydrological Processes*, 19, 901-920.
- Moussa R., Voltz M., Andrieux P. 2002. Effects of the spatial organization of agricultural management on the hydrological behaviour of a farmed catchment during flood events. *Hydrological Processes*, 16, 393-412.
- Pot V., Simunek J., Benoit P., Yra A., Martinez-Cordon M.J. 2004. Impact of rainfall intensity on the transport of two herbicides in undisturbed grassed filter strip soil cores. *Soumis à Journal of Contaminant Hydrology*.
- Revil A., Hermitte D., Voltz M., Moussa R., Lacas JG., Bourrié G., Trolard F. 2002. Self-potential signals associated with variations of the hydraulic head during an infiltration experiment. *Geophysical Research Letter*, 29, 101-10.4 .
- Souiller C., Coquet Y., Benoit P., Real B., Garon-Boucher C., Laillet B., Dutertre A., Michalak B., Assier J.-M. 2002. Capacités de stockage et d'épuration des sols de différents dispositifs enherbés vis-à-vis des produits phytosanitaires. Première partie : dissipation des produits phytosanitaires à travers un dispositif enherbé : mise en évidence des processus mis en jeu par la simulation de ruissellement couplée avec l'infiltrométrie. *Etude et Gestion des Sols*. 9, 269-285.
- Tortrat F., Arousseau P., Squidant H., Gascuel-Oudou C., Cordier M.O., 2004. Modèle Numérique d'Altitude (MNA) et spatialisation des transferts de surface : utilisation de structures d'arbres reliant les exutoires de parcelles et leurs surfaces contributives. *Bulletin SFPT*, 172, 128-136.
- Voltz M., Louchart X. 2001. Les facteurs clés de transfert des produits phytosanitaires vers les eaux de surface. *Ingénieries - EAT, N° Spécial Phytosanitaires*, 45-54.

Thèses soutenues

- Adamiade C.V. 2004. Influence d'un fossé sur les écoulements rapides au sein d'un versant. Application au transfert des produits phytosanitaires. Thèse de Doctorat de l'Université Paris VI . 214 pp.
- Chahinian N. 2003. Paramétrisation et calibration d'un modèle hydrologique spatialisé en milieu agricole : Application au bassin versant de Roujan. Thèse de doctorat de l'Université Montpellier II.

- Kao C. 2002. Fonctionnement hydraulique des nappes superficielles de fonds de vallées en interaction avec le réseau hydrographique. Thèse de Doctorat. ENGREF / Cemagref. 266 p. + annexes.
- Le Forner S. 2001. Modélisation hydrologique des échanges surface-souterrain avec réseau de fossés en milieu agricole méditerranéen. Thèse de Doctorat de l'Université Montpellier II, Sciences et Techniques du Languedoc. 229 p.
- Madrigal I. 2004. Rétention de pesticides dans les sols de dispositifs tampon, enherbés et boisés - Rôles des matières organiques. Thèse de Doctorat de l'INAPG.
- Margoum C. 2003. Contribution à l'étude du devenir des produits phytosanitaires lors d'écoulements dans des fossés : caractérisation physico-chimique et hydrodynamique. Thèse de l'Université de Grenoble, Ecole Doctorale EDISCE. 143 p. + annexes.

Prix

- Le prix de l'Académie d'Agriculture de France et la Fondation Xavier-Bernard a été attribué à Olivier Diot pour récompenser la qualité de son mémoire de fin d'études et de DEA "Etude de la variabilité spatiale des réseaux d'écoulement anthropiques en milieu méditerranéen viticole". ENGEEES, Université Louis Pasteur Strasbourg et INRA Montpellier, 2000 (Remise du prix le 4 Octobre 2001).
- Le prix PHYTOPHARMA 2004 a été remis à Christelle Margoum à l'occasion du XXXIVème congrès du Groupe Français des Pesticides pour ses travaux de thèse «Contribution à l'étude du devenir des produits phytosanitaires lors d'écoulements dans des fossés : caractérisation physico-chimique et hydrodynamique».
- Participation à l'organisation de colloques
- 2001 : XXXIle Colloque du GFP organisé par le Cemagref de Lyon
- 2003 : Unicum colloquium GFP-MGPR organisé par l'INRA Aix-en-Provence



APR 1999

PROJET TAPAS

TRANSFERT DE PESTICIDES VERS L'ATMOSPHERE PAR DÉRIVE ET VOLATILISATION DE POST-APPLICATION. IMPLICATIONS POUR LE BILAN ENVIRONNEMENTAL D'UNE CULTURE, LA CONTAMINATION DE L'ATMOSPHERE ET L'EXPOSITION DE L'HUMAIN.

COORDINATEUR SCIENTIFIQUE :

Pierre CELLIER

UMR INRA - INA - PG,
"Environnement et
Grandes Cultures"

78850 Thiverval-
Grignon

Tél. 01 30 81 55 32
Fax : 01 30 81 55 63
Pierre.Cellier@grignon.inra.fr

Ce projet avait pour objectif de décrire et de quantifier les voies de transfert qui concourent à la contamination de l'atmosphère par les pesticides, soit au moment du traitement par dérive, soit en post-application par volatilisation. L'approche retenue couple expérimentations et modélisation. Les travaux ont été conduits selon quatre volets : i) mise au point de méthodes d'analyse des pesticides dans l'air, ii) approche expérimentale des transferts de pesticides, en conditions de laboratoire et au champ, iii) modélisation mécaniste de la volatilisation depuis le sol et modélisation du bilan environnemental d'une culture après application d'un pesticide et iv) mesures de concentrations en divers composés en zones urbaine et rurale en vue d'estimer les niveaux d'exposition.

Ce travail résulte d'une collaboration de deux équipes : les équipes Biosphère-Atmosphère et Sol de l'UMR INRA/INA PG Environnement et Grandes Cultures (Grignon) et l'équipe du LERES (ENSP, Rennes). Il faut aussi souligner que ce projet a également permis d'engager des discussions et d'établir des collaborations avec divers partenaires étrangers (Pays-Bas, Danemark).

QUELS SONT LES PRINCIPAUX ACQUIS ?

En terme métrologique

Ce premier axe avait pour objectif d'acquérir ou asseoir un savoir-faire de qualité dans la mesure de concentrations de pesticides dans l'atmosphère, de développer des méthodes de mesures de transfert de pesticides vers l'atmosphère pendant l'application (dérive) et en post-application (volatilisation).

1) Mise au point de méthodes de mesure de concentration en pesticides dans l'air. Plusieurs méthodes d'analyse, adaptées à toute la gamme des concentrations rencontrées, ont été développées ou évaluées (comprenant les études d'efficacité de piégeage des adsorbants puis d'extraction, limites de détection et de quantification de la chaîne analytique) : i) désorption thermique/GC-MS, analyse multi-résidus de 15 composés, ii) solvant/ultrasons/GC-MS, iii) Accelerated Solvent Extraction/LC-MS, analyse multi-résidus de 43 composés, et iv) solvant/GC-ECD ou GC-MS. Différents modes de prélèvements ont aussi été testés. Nous avons pu mettre en évidence la meilleure sensibilité de la chaîne de désorption thermique/GC-MS pour les composés étudiés grâce à une comparaison avec les concentrations estimées après extraction par solvant et agitation. Un système de laboratoire a été mis au point pour évaluer le potentiel de volatilisation d'un pesticide dans des conditions contrôlées.

2) Obtention de références expérimentales sur la dérive des pesticides sur grandes cultures (atrazine et alachlore sur maïs) et en arboriculture. La notion de dérive recouvre deux aspects complémentaires : i) les pertes pendant l'application, c'est à dire la différence entre la quantité sortant du pulvérisateur et celle arrivant sur la cible (sol+plante) et ii) les quantités déposées à coté de la parcelle. Un ensemble de questions sur l'estimation de la dérive et sur les difficultés expérimentales se sont posées. Des tests méthodologiques de mesure de la dose appliquée sur la cible ont été réalisés en grandes cultures. L'évolution spatio-temporelle du nuage a permis quant à elle d'apprécier le phénomène de dérive du point de vue des niveaux de contamination à proximité de la zone d'application et d'identifier les phénomènes associés (dépôts au sol, dilutions, transformations).

3) Acquisition et renforcement des compétences dans le domaine de la mesure des flux de volatilisation dans des conditions proches de la réalité agricole et conception de nouvelles méthodes pour l'étude des mécanismes de la volatilisation des pesticides (tunnels de ventilation et modélisation inverse). Des tunnels de ventilation, jusqu'ici utilisés pour l'étude de la volatilisation de l'ammoniac, ont été adaptés et testés. Après avoir montré que leurs caractéristiques météorologiques étaient satisfaisantes (répétabilité et précision), ils nous ont permis de mettre en lumière l'effet des conditions environnementales (contenu initial en eau du sol) sur la dynamique du flux et aussi d'en souligner la complexité (effet couplé température / teneur en eau). Ensuite, les données acquises à l'échelle de la parcelle (méthode classique des gradients) ont permis de tester une méthode d'estimation des flux par modélisation inverse (modèle de dispersion/dépôt FIDES, initialement développé pour l'ammoniac, Loubet *et al*, 2001). Ces premiers tests dans le cas des pesticides ont montré la capacité de FIDES en mode inverse à calculer un flux de volatilisation, moyennant la connaissance des conditions de turbulence locales et la concentration en pesticide à un seul niveau.

Des références à l'échelle de la parcelle

L'acquisition de références pour la volatilisation à l'échelle de la parcelle constituait un des objectifs de ce projet.

La mesure des flux de volatilisation a été réalisée en conditions agronomiques réelles (Figure 1). Elle a porté sur 3 molécules : trifluraline, alachlore et atrazine. Deux conditions pédoclimatiques, Rennes et Grignon, ont été retenues. Pour la trifluraline, composé présentant le plus fort potentiel de volatilisation au vu de ses caractéristiques physico-chimiques, 30 % de la dose appliquée théorique (41 % de la dose mesurée) ont été perdus par volatilisation après 6 jours, dont 98 % avant l'incorporation (réalisée 24h après l'application). La volatilisation chute de plusieurs ordres de grandeur après l'incorporation, démontrant ainsi l'effet drastique de cette pratique. La quantification directe de cet effet est nouvelle. Les pertes pour l'alachlore sont de quelques % de la dose appliquée mesurée et encore plus faibles pour l'atrazine (quelques 0,1 %) en 4 jours. Un cycle diurne d'émission est observé pour les trois molécules. L'heure d'occurrence du pic dans la journée semble liée aux conditions pédoclimatiques locales (température, contenu en eau du sol) mais cette observation ne reste encore que partiellement interprétée en raison de la complexité des interactions en jeu.

Sur le site de Grignon, les résidus en trifluraline dans le sol ont été suivis jusqu'à 101 jours après l'application. Deux phases sont observées pour la concentration en surface : une phase initiale très rapide avec une contribution majeure de la volatilisation (71 %), suivie d'une seconde plus lente. La durée de demi-vie au champ (notée DT50) est souvent estimée à partir d'une cinétique d'ordre 1. Nos résultats indiquent que deux cinétiques seraient nécessaires pour les composés présentant une volatilisation significative : une première liée à la volatilisation et une seconde à la dégradation. Il est donc important de faire une distinction entre les DT50 de dissipation estimées au champ (qui intègrent volatilisation et dégradation) et les DT50 de dégradation.

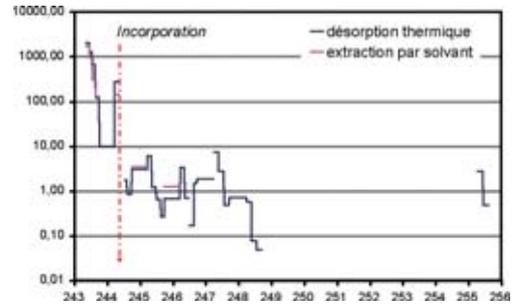
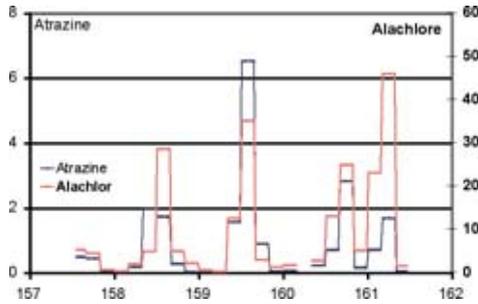


Figure 1 : Flux de volatilisation ($\text{ng.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) mesurés au champ (moyennés sur la durée du prélèvement) en fonction du temps (TU) de (à gauche) l'atrazine (bleu) et l'alachlore (orange) en 2000 et (à droite) trifluraline avec deux modes de prélèvement (en bleu, prélèvement sur adsorbant et extraction en désorption thermique ; en rose, adsorbant et extraction par solvant). Sur la figure de droite, l'échelle des ordonnées est logarithmique.

Exposition en milieu urbain et rural

Cet axe se focalise sur l'estimation du niveau de contamination de l'atmosphère selon la période considérée (application, post-application) et selon la distance à l'application (milieu rural, milieu urbain).

Une campagne de prélèvement des phases atmosphériques gazeuse et particulaire a été conduite de la mi-mars à la mi-juin 2003, en milieu urbain (Rennes, ENSP). La détection des pesticides en milieu urbain montrait des concentrations très faibles, bien inférieures à celles que nous avons pu mesurer en proximité de traitement mais aussi souvent aux concentrations mises en évidence lors des campagnes de mesures conduites par les réseaux de surveillance de la qualité de l'air en France (Région Centre, Poitou-Charentes, Bretagne). L'atrazine (à plusieurs reprises accompagnée de ses formes désalkylées) et l'alachlore sont les deux composés les plus fréquemment rencontrés (avec la sulcotrione), ce qui s'explique par la coïncidence avec les applications d'herbicides sur le maïs en Bretagne. Différents fongicides du blé sont également mis en évidence à des concentrations et des fréquences significatives (epoxyconazole, cyproconazole, cyprodinyl). La période correspond au second traitement fongicide sur les céréales.



Figure 2 : Le dispositif de prélèvement haut-volume développé dans le cadre de ce projet

Une seconde campagne a été conduite entre le 20 avril et 20 juillet 2004 avec la collaboration de l'association de surveillance de la qualité de l'air en Bretagne (Air Breizh). Trois sites, du milieu rural au milieu urbain, ont été équipés d'un dispositif de prélèvement hebdomadaire et pour deux d'entre eux d'un système de prélèvement

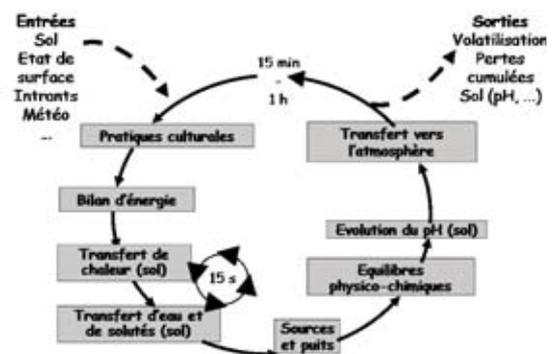


Figure 3 : Schéma de principe du modèle Volt'Air

quotidien (Figure 2). Le prélèvement quotidien permet de voir une augmentation des concentrations pendant les applications, alors qu'à l'échelle hebdomadaire, l'impact est gommé. Les niveaux observés soulignent l'intérêt de disposer de méthodes de mesures très sensibles, mais aussi de mesures sur des pas de temps plus courts (journée) dans le cadre de campagnes de mesure spécifiques.

Modélisation

Ce dernier axe a été consacré à l'étude du déterminisme du transfert par volatilisation afin de mieux le prévoir et de pouvoir par la suite le contrôler. Pour ce faire, il s'agissait de mettre au point un modèle de simulation du processus, permettant d'analyser l'importance des différents facteurs (pesticides, sol, climat et techniques culturales) puis de mettre en balance les voies de dissipation des pesticides avec leurs fuites vers les autres compartiments environnementaux.

1) Volatilisation : Volt'air Pesticides (Figure 3) a été développé dans le cadre de ce projet afin de décrire la volatilisation depuis un sol nu. Basé sur un modèle de volatilisation de l'ammoniac (Génermont et Cellier, 1997), il prend actuellement en compte l'application de pesticides avec incorporation ou non, les équilibres physico-chimiques dans le sol, la dégradation dans le sol suivant une cinétique d'ordre 1 (à partir du temps de demi-vie de dégradation). Le transport dans le sol et vers l'atmosphère est décrit de manière similaire à celui de l'ammoniac. Il s'agit d'un modèle à l'échelle de la parcelle et à pas de temps infra-horaire, ce qui permet de décrire la dynamique des flux durant la journée. Testé avec les jeux de données obtenus au champ, il reproduit de manière satisfaisante les conditions pédoclimatiques locales et l'ordre de grandeur des flux de volatilisation pour les trois molécules testées. Il décrit le fort pic de volatilisation suivant l'application pour la trifluraline, le cycle diurne ainsi que l'effet de l'incorporation sur la volatilisation. A l'heure actuelle, on a pu mettre en évidence sa difficulté à représenter correctement l'heure d'occurrence du pic de volatilisation dans la journée. Cela serait lié à la description des interactions entre les pesticides et la surface en cas d'assèchement du sol. Les perspectives actuelles de développement du modèle portent sur l'insertion d'une paramétrisation de l'adsorption en fonction du contenu en eau. Les interactions pesticide/sol dans les minutes/heures suivant l'application sont aussi relativement mal connues actuellement.

2) Bilans environnementaux : Le modèle de bilan PRZM qui comprend une description simple de volatilisation, a été testé avec les jeux de valeurs obtenues. Les résultats ont bien souligné la nécessité d'améliorer les routines de volatilisation des modèles de devenir des pesticides comme PRZM, sur la base de modèles plus fiables représentant le processus de volatilisation. En effet, un calage de la profondeur d'imprégnation du pesticide en surface du sol (paramètre sensible du modèle) a été nécessaire pour simuler la volatilisation de la trifluraline. A partir de cette valeur, un calage supplémentaire de la constante de Henry de l'atrazine et l'alachlore a été nécessaire pour le scénario de Rennes. Une fois recalé, le modèle a permis de prédire les autres termes du bilan environnemental de la trifluraline (lixiviation, accumulation dans le sol), et a montré l'intérêt d'une incorporation rapide pour minimiser les impacts environnementaux. Cela devrait permettre à terme de mieux analyser les impacts environnementaux dans les différents compartiments de l'environnement de la protection phytosanitaire des cultures.

AVEC QUELLES LIMITATIONS ET QUELLES QUESTIONS ÉMERGENTES ?

Les travaux conduits dans ce projet ont soulevé plusieurs questions :

- **Comment mesurer de manière fiable la dose d'application ?** Choix du solvant selon le composé ; représentativité des échantillons versus hétérogénéité de l'application. A noter qu'aucune méthode standard n'existe pour mesurer la dose d'application (un projet AFNOR est en cours, mai 2004).

- **Comment mesurer la partition gaz/gouttelette de spray ou gaz-particule ?** La connaissance de la forme physique des produits faciliterait l'interprétation des observations et la prévision de la dérive.
- **Comment mesurer la volatilisation juste après l'application ou avant la fin de l'application ?** Un délai entre application et début des mesures de volatilisation est nécessaire pour éviter une «contamination» par la dérive, délai pouvant engendrer une sous-estimation de la quantité volatilisée. Mais comment séparer la volatilisation depuis le sol du nuage de dérive ?
- **Comment expliquer le cycle diurne de volatilisation observé ?** Le couplage de plusieurs effets (humidité/température), les interactions sol/végétation - produit formulé et la difficulté de mesures (contenu en eau du sol en surface) rendent difficile son interprétation. Cet aspect a été identifié lors du Workshop «Emission of Pesticides into the air» (février 2004, Wageningen) comme un enjeu actuel important pour mieux décrire la volatilisation.
- **Quel modèle de volatilisation, pour quel usage/utilisateur ?** Une interface-utilisateur de Volt'Air Ammoniac a été développée pour cela et peut être adaptée à Volt'Air Pesticides. Cependant, une réflexion doit être menée pour définir le domaine de validité du modèle et ses modalités d'utilisation selon l'application envisagée.
- **Comment concilier la facilité d'utilisation des modèles avec une description complète et réaliste des processus ?** Le test de PRZM montre qu'une paramétrisation plus fine du modèle en améliorerait certainement les performances. Cependant, elle ne doit pas engendrer une trop grande complexification des paramètres d'entrée qui générerait l'utilisation du modèle pour des diagnostics de pratiques phytosanitaires sur une plus grande échelle.

PERSPECTIVES : DES ÉLÉMENTS DE BASE POUR LA SUITE

- **Quelle généralisation des observations ?** La transposition à d'autres composés/produits des méthodes expérimentales développées (mesures de concentrations, système de laboratoire, transfert de masse, dérive, volatilisation) est possible moyennant les mises au point analytiques adéquates. Par contre, l'extrapolation au champ des résultats acquis au laboratoire n'est guère envisageable. Ces systèmes donnent plutôt des résultats *relatifs*. En revanche, elle est tout à fait possible pour les tunnels avec une utilisation conjointe de Volt'Air.
L'extension à d'autres molécules ou contextes pédoclimatiques est possible grâce aux outils numériques développés (Volt'air Pesticides) ou testés (PRZM, FIDES). La méthode d'évaluation de type bilan ou ACV (Analyse de Cycle de Vie) complète les méthodes actuellement disponibles pour juger des pratiques phytosanitaires. Néanmoins, du chemin reste à parcourir avant d'avoir une méthode opérationnelle.
- **Peut-on mieux estimer les impacts sur l'environnement près des zones d'application ?** De nombreux éléments (expérimentaux, de modélisation) ont été réunis pour évaluer les quantités déposées près de zones d'application par dérive ou suite à la volatilisation de post-application. Un couplage de FIDES, outil simple applicable à des cas simples, avec un modèle de volatilisation est envisageable pour simuler la variation spatio-temporelle de la concentration du gaz dans l'air à proximité des zones d'application dans les jours suivant l'application. Pour des situations plus complexes, l'INRA dispose également de modèles eulériens ou lagrangiens à même de simuler la dispersion de gaz ou de particules de tailles variables. Des problèmes importants restent toutefois à résoudre, en particulier pour ce qui concerne la partition phase gaz/ phase particulaire dans le nuage de pulvérisation et plus généralement dans l'atmosphère, tant du point de vue expérimental que du point de vue de la modélisation du devenir des composés.

- **Peut on faire le lien entre les sources de pesticides vers l'atmosphère et l'exposition ?** Les présents travaux contribuent à l'estimation des niveaux de contamination du milieu. Une estimation plus précise de l'exposition par voie aérienne nécessite de : *i) compléter le terme source*. Si la volatilisation depuis la plante peut être abordée, au moins du point de vue expérimental, de manière similaire à celle adoptée pour la volatilisation depuis le sol, les pertes à l'application demanderaient de nouveaux développements expérimentaux et en modélisation, *ii) intégrer ces émissions dans l'espace et le temps*. Cela requiert des informations fiables sur les produits appliqués, leurs quantités, périodes et lieux d'application, *iii) coupler des modèles d'émission et de dispersion atmosphérique* (à diverses échelles, - FIDES jusqu'à des distances de l'ordre du km, - modèles prenant en compte la dynamique de l'ensemble de la couche limite au-delà), et *iv) intégrer des processus complémentaires* - partition gaz/particule, dégradation (photo)-chimique, dépôt (sec, humide) dès que l'on s'intéresse à des échelles d'espace plus grandes.

PARTENAIRES

- INRA, UMR EGC (Thiverval-Grignon) ; ENSP, LERES (Rennes)

Et la participation de

- à l'INRA UMR EGC (Thiverval-Grignon) : Durand B., Fovart E. ; à l'INRA UMR Agronomie (Thiverval-Grignon): Grandeau G., LeFloch D.; à l'ENSP LERES : LeBot B. ; au CETIOM : Quéré L., Gilot L. ; à l'INRA Le Rheu, centre expérimental : Nedellec G., Maquère M. ; et à l'INRA de Rennes : Robin P

PUBLICATIONS ET VALORISATIONS

Publications dans des revues à comité de lecture

- Bedos C., Rousseau-Djabri M.F., Gabrielle B., Flura D., Durand B., Barriuso E., Cellier P. (soumis). Measurement of trifluralin volatilization in the field: relation to soil residue and effect of soil incorporation.
- Ravier I., Haouisee E., Clément M., Seux R. , Briand O. (2005). Field experiments for the evaluation of pesticide spray-drift on an arable crop. *Pesticide Science Management*, 61, 728-736.
- Briand O., Millet M., Bertrand F., Cellier P, Bedos C., Seux R. (2003). Atmospheric concentrations and volatilisation fluxes of two herbicides applied on maize. *Fresenius Environmental Bulletin*, 12, 675-679.
- Bedos C., Cellier P, Calvet R., Barriuso E. (2002a). Occurrence of pesticides in the atmosphere in France. *Agronomie*, 22, 35-49.
- Bedos C., P.Cellier, R. Calvet, E. Barriuso, B. Gabrielle, (2002b) Mass transfer of pesticides into the atmosphere by volatilization from soils and plants: overview, *Agronomie*, 22, p21-33.
- Bedos C., Rousseau-Djabri M. F., Flura D., Masson S., Barriuso E., Cellier P.(2002c). Rate of pesticide volatilization from soil: an experimental approach with a wind tunnel system applied to trifluralin, *Atmospheric Environment*, 36, 5917-5925.
- Briand O., Millet M., Bertrand F., Clément M., Seux R. (2002a). Assessing atmospheric transfer of pesticides to the atmosphere during and after application. Development of a multiresidue method using Adsorption on tenax®/Thermal Desorption-GC/MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 374, 848-857.
- Briand O., Bertrand F., Millet M., Seux R. (2002b) Etude expérimentale des transferts sol-air de pesticides à l'échelle d'une parcelle. Utilité de déterminer des flux de volatilisation. Numéro spécial Ingénierie Eau, Agriculture et Territoires (éditions CEMAGREF), XXXIème congrès du Groupe Français des Pesticides. Transfert des produits phytosanitaires. Diagnostic de la pollution associée, solutions correctives. 15-17 mai 2001, Lyon France, 67-71.

- Briand O., Bertrand F., Seux R., Millet M. (2002c). Comparison of different sampling techniques for evaluation of pesticide spray drift in apple orchards. *The Science of the Total Environment*, 288, 199-213.
- Clément M., Arzel S., Le Bot B., Seux R., Millet M. (2000). Adsorption/thermal desorption-GC/MS for the analysis of pesticides in the atmosphere. *Chemosphere*, 40, 49-56.

Chapitre d'ouvrage

- Bedos C., Calvet R., (2002d). In *Modélisation des transferts de pesticides dans l'environnement*. Chap. III.5, Transferts vers l'atmosphère, Ecrin, Paris, p137-146.

Communications à des colloques et actes de colloques

- Bedos C., Cellier, P., Gabrielle, B. (2005). Modélisation de la volatilisation des pesticides. XXXV^{ème} Congrès du Groupe Français des Pesticides (GFP). Produits phytosanitaires: Impact environnemental, gestion et traitements. 18-20 mai 2005, Marne La Vallée.
- Grimbuher S., Seux R., Clément M., Briand O. (2005). Characterizing aerial exposure for a better evaluation of human exposure to pesticides. International Workshop on Crop Protection Chemistry, 14-17 février 2005, San Jose, Costa Rica.
- Rousseau P., Nogues L., Seux R., Briand O. (2005). Pesticide spray drift and associate processes in the case of an application of fungicides on arable crop. 15th Annual Meeting of SETAC Europe - "The Reason d'être of environmental toxicology and chemistry", 22-26 mai 2005.
- Rousseau P., Nogues L., Seux R. and Briand O. (2005). Evidence of local scale transport of pesticides from a singular application of pesticides. 15th Annual Meeting of SETAC Europe - "The Reason d'être of environmental toxicology and chemistry", 22-26 mai 2005.
- Bedos C., Rousseau-Djabri M. F., Flura D., Durand B., Gabrielle B., Barriuso E., Cellier P., (2004). Comparaison de méthodes de prélèvement d'air pour la mesure de la volatilisation de pesticides au champ : cas de la trifluraline.: XXXIV^{ème} Congrès du Groupe Français des Pesticides (GFP) Produits phytosanitaires : Concilier efficacité et gestion durable, 7 p.
- Grimbuher, S., O. Briand, M. Clément, and R. Seux, (2004). Caractériser les contaminations aériennes pour mieux estimer l'exposition de l'humain aux pesticides.: XXXIV^{ème} Congrès du Groupe Français des Pesticides (GFP) Produits phytosanitaires : Concilier efficacité et gestion durable, 9 p.
- Rousseau P., Clément M., Seux R., Briand O., (2004). Dix ans de mesure des niveaux de contamination de l'atmosphère par les pesticides en France.: XXXIV^{ème} Congrès du Groupe Français des Pesticides (GFP) Produits phytosanitaires : Concilier efficacité et gestion durable, 11 p.
- Bedos C., B. Gabrielle, M.F. Rousseau-Djabri, D. Flura, E. Barriuso, P. Cellier, (2003) Pesticide volatilization fluxes in relation to the behaviour of the compound in the soil : the atmospheric part (XII Symposium Pesticide Chemistry, June 4-6th 2003, Piacenza, Italy), article publié dans les actes du colloque.
- Haouisee E., Briand O., Lebot B. and Seux R. (2003) A simple and fast procedure to collect and analyse pesticides in urban atmosphere. 27th Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques. 15 au 19 juin 2003, Nice, France.
- Le Cadre, E., S. Généromont, C. Bedos, and S. Recous, (2003). Modelling ammonia volatilisation from synthetic fertilizers.: 12th N workshop.
- Ravier I., Briand O., Seux R.. (2003). Pratiques agricoles et conséquences sanitaires. Etude du comportement des agriculteurs bretons lors de l'utilisation des pesticides. 33^{ème} Congrès du Groupe Français des Pesticides, 3rd Symposium of Mediterranean Group of Pesticide Research. 20 au 24 mai, Aix en Provence, France.
- Scheyer A., Morville S., Briand O., Mirabel Ph., Millet M. (2003) A multi-residue method for the analysis of pesticides in the atmosphere using ion trap GC-MS/MS by direct injection

or after derivatisation with PFBB. SETAC Europe 13th Annual Meeting, Understanding the Complexity of Environmental Issues: A Way to Sustainability. 27 April - 1 May 2003, Hamburg, Germany.

- Bedos, C., M. F. Rousseau-Djabri, D. Flura, S. Masson, P. Cellier, and E. Barriuso (2002e) Volatilisation d'un herbicide appliqué sur sol nu : étude expérimentale: Analyse de traces, bioproducts et qualité de l'environnement, 2ème Colloque du GMRE et 32ème Congrès du GFP. + article
- Bedos C., D. Flura, M.F. Rousseau, S. Masson, P. Cellier, E. Barriuso, (2001). Pesticide volatilization flux : a semi-field system, The eight Symposium on the Chemistry and Fate of Modern Pesticides, Danemark, août 2001.
- Bertrand F., O. Briand, M. Millet, P. Cellier., C. Bedos, R. Seux, (2001). Atmospheric concentrations and volatilization fluxes of two herbicides applied on maize. 8th Symposium on Chemistry and Fate of Modern Pesticides. 21-24 August 2001, Copenhague, Danemark.
- Briand O., Bertrand F., Millet M., Seux R., (2001). Etude expérimentale des transferts sol-air de pesticides à l'échelle d'une parcelle. Utilité de déterminer des flux de volatilisation. XXXIème congrès du Groupe Français des Pesticides. Transfert des produits phytosanitaires. Diagnostic de la pollution associée, solutions correctives. 15-17 mai 2001, Lyon, France.
- Millet, M., C. Bedos, O. Briand, P. Cellier, E. Barriuso, P. Mirabel, and R. Seux, (2001), Atmospheric contamination by pesticides : a review on French studies: SETAC. Madrid, (Espagne), poster.

Thèse

- Briand O. (2003a). Influence des pratiques agricoles et des facteurs environnementaux sur les niveaux de contamination de l'atmosphère par les pesticides. Thèse de doctorat, Université de Rennes 1, 297pp.

Rapports de stage

- DEA: Boronat J. (2004); Rousseau P. (2004); Haouisee E. (2002); DESS: Panic I. (2003); Tourtellier E. (2003); Ingénieurs: Lasquelléc V. (2004); Nogues L. (2004); Rousseau P. (2003); Besse F. (2003). Licence/maîtrise: Gru Y. (2003); Volteau C. (2002); Lamazouade S. (2001); Bouchez S. (2000); IUT: Morvannou A. (2004); Oheix C., (2002).

Participation à des groupes de travail

- Groupe technique de pilotage dans le cadre de la Réflexion nationale sur la hiérarchisation (coordonné par R. Farret et A.C. Le Gall, INERIS) ; Expertise collective «Pesticides, agriculture et environnement: limiter les usages et réduire les impacts sur l'environnement», coordonnée par l'INRA, le Cemagref et la cellule expertise de l'INRA ; Groupe «Phyt'air» du CORPEN (coordonné par B. Ruelle, CEMAGREF à partir de septembre 2005) ; " Groupe Méthodologie- Environnement" de la Commission d'Etude de la Toxicité des Produits Antiparasitaires (Atelier Air) ; Sous-Groupe Air de l'Organisation Européenne et méditerranéenne pour la protection des plantes (OEPP) ; co-organisation avec Alterra (Wageningen, Pays-Bas) et le Forschungszentrum (Jülich, Allemagne) d'un workshop intitulé «Emission of pesticides into the air» (février 2004).

Participation aux journées techniques d'information

- Journée technique d'information sur l'air et les produits phytosanitaires (janvier 2002) de l'ADEME/UIPP, Débat public organisé à l'initiative de l'UIPP (septembre 2002), Journée de l'APCA (décembre 2003) et Journée Pesticides dans l'Air ambiant de l'ADEME (11 mai 2005)..



APR 1999

ÉVOLUTION ET ORIGINES DES APPORTS ATMOSPHÉRIQUES DE PESTICIDES À L'ÉCHELLE INTER-RÉGIONALE

COORDINATEUR SCIENTIFIQUE :

Marc CHEVREUIL

Laboratoire Hydrologie
et Environnement,
UMR
Sisyphé, UPMC,
BC 105, 4 place Jussieu,
75252 Paris Cedex 5

Tél : 01 44 27 70 24
et 01 44 27 51 38
marc.chevreuil@ccr.jussieu.fr

INTRODUCTION

Dans les études du transfert des pesticides vers les eaux de surface, le ruissellement et les apports souterrains sont considérés comme largement dominants, alors que les apports atmosphériques sont considérés comme négligeables. Pourtant, pour certains écosystèmes dits "éloignés", particulièrement distants des activités anthropiques, les apports atmosphériques sont la seule source de contamination. C'est le cas en Europe des lacs alpestres d'altitude où la présence de triazines a été observée dans la colonne d'eau (Buser, 1990).

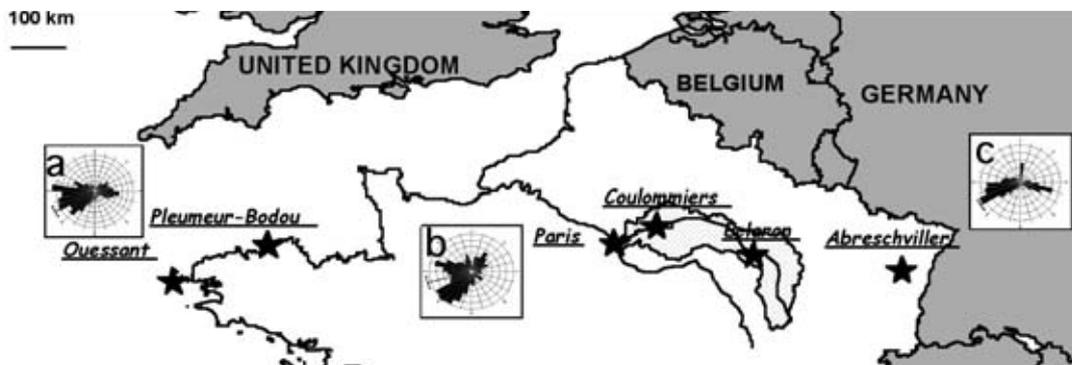
Afin d'évaluer la part des pesticides transitant dans le compartiment atmosphérique et ayant un impact sur les apports à l'échelle du bassin versant, nous avons mené cette étude sur les retombées atmosphériques totales. L'objectif de notre étude a concerné l'évolution saisonnière de la contamination des retombées atmosphériques à deux niveaux d'échelle spatiale : à une échelle régionale (50-500 km), puis à une échelle inter régionale (>500 km). Cette seconde échelle spatiale "long distance", a été retenue afin de nous permettre d'estimer l'étendue de l'impact des grandes cultures sur des milieux non agricoles. L'étude de la contamination a été réalisée à six sites placés dans trois types d'environnement : agricole (bocage, cultures intensives...), urbain et forestier. Afin de suivre la progression de la contamination des apports atmosphériques, les sites étaient situés à la même latitude sur un axe transversal Bretagne, Ile-de-France, Vosges. Ces environnements contrastés ont été choisis pour améliorer les connaissances sur l'influence respective des activités anthropiques (agricoles et urbaines) et des facteurs climatiques (forme et hauteur des précipitations). Notre second objectif a été la détermination du niveau du bruit de fond, hors et pendant la période d'application sur le milieu littoral sous un régime de vents océaniques.

La localisation des zones d'apport a été définie à partir de plusieurs méthodes de traçage, dont le rapport d'abondance entre des molécules homologues et d'autres qui ne sont plus autorisées en France et en Europe, ainsi que la proportion d'herbicides spécifiques à des cultures autres que celles de l'environnement local du site. Des traceurs de sources de pollution caractéristiques des apports à l'échelle globale (rapport α HCH/ γ HCH) ou de pollution urbaine (HCB) ont également été pris en compte, pour caractériser l'étendue potentielle de la diffusion atmosphérique des contaminants persistants.

PRÉSENTATION DES SITES D'ÉTUDE

La France se situe depuis la côte ouest de l'océan Atlantique sous des vents dominants orientés d'ouest en est (Figure 1). Les régions fortement agricoles sont regroupées dans la région centre de la France et notamment dans le bassin

versant de la Marne en ce qui concerne le maïs. Il est à noter également que lors de l'étude, l'usage de l'atrazine était autorisé en France alors qu'il était interdit dans certains pays d'Europe, par exemple en Allemagne et en Suède, alors que ces pays détectent toujours ce produit dans leurs retombées atmosphériques. Des prélèvements ont donc été réalisés dans les 6 sites présentés sur la figure 1. Les sites sont répartis selon une transversale d'ouest en est, selon la direction des vents dominants et selon leur dominance urbaine (Paris), agricole (Pleumeur-Bodou, Coulommiers, Eclaron) et éloignés (Abreschviller, Ouessant). Il est à noter qu'Ouessant servira de référence de la contamination transatlantique et Abreschviller de possible contamination transfrontalière.



Localisation des sites de prélèvement et de direction prédominante des vents au cours de l'année de prélèvement à Ouessant (a), Paris (b) et Abreschviller (c)

CHOIX DES MOLÉCULES

11 molécules susceptibles d'être décelées dans des retombées atmosphériques ont été retenues.

- les triazines : ces herbicides étaient fréquemment employés en France au moment de l'étude. L'atrazine est certainement le plus connu pour sa persistance dans l'environnement et est responsable de nombreux problèmes de contamination des ressources en eau potable. La déséthylatrazine (DEA) et la déisopropylatrazine (DIA) sont deux produits de dégradation de l'atrazine et de la simazine. Ils sont fréquemment rencontrés dans différents compartiments de l'environnement, notamment la DEA. Le suivi de produits de dégradation permet de vérifier les processus de transport et de suivre la dégradation de la molécule mère. Les autres triazines sont moins fréquentes que l'atrazine, mais elles sont représentatives de certains traitements effectués sur d'autres cultures. Par exemple, la terbuthylazine est employée sur le maïs et la vigne, la terbutryne sur le blé, le pois et la pomme de terre, la prométryne sur le tournesol.
- les chloroacétanilides : l'alachlore, le métolachlore. Ces herbicides sont plus solubles que l'atrazine (240 et 530 mg/l respectivement).
- les organochlorés : les isomères de hexachlorocyclohexane dont l' α HCH et l' γ HCH ou lindane et l'hexachlorobenzène (HCB). Le lindane a été retenu bien que ne figurant plus sur la liste des pesticides autorisés en France, car cet insecticide est largement diffusé dans l'environnement par le compartiment atmosphérique et la poursuite de son utilisation en dehors de la CEE a pour conséquence sa persistance dans l'hémisphère nord.

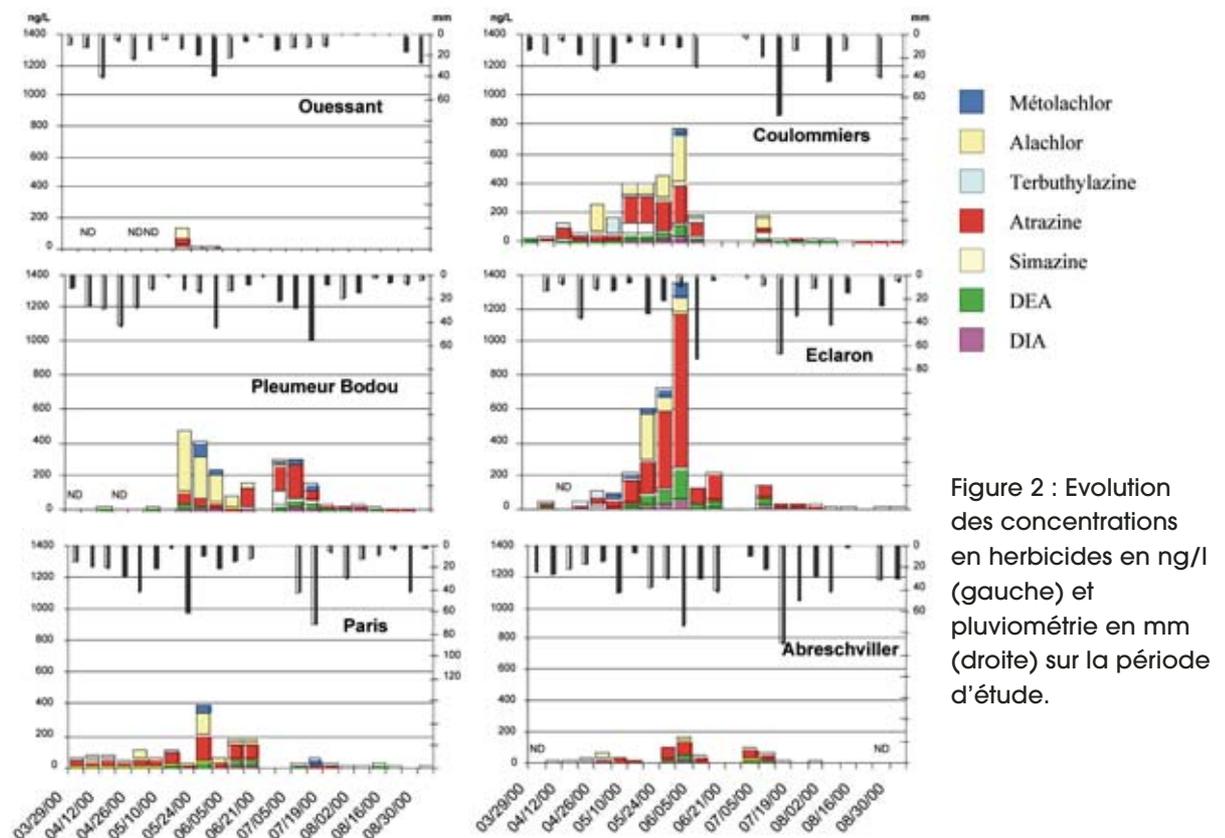
Remarque : depuis 2003, une grande partie de ces molécules sont maintenant interdites en France. Le suivi de la contamination a été prolongé afin d'évaluer la vitesse de disparition de telles molécules dans l'atmosphère.

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Les herbicides

Ces résultats ont fait l'objet d'une publication (Blanchoud *et al.*, 2002). Etant donné la difficulté de collecte de l'eau de pluie à Ouessant, seuls quelques échantillons ont été

prélevés et les fortes pluies mesurées sur le site ont entraîné des prélèvements sur des périodes de 2 jours. Les molécules décelées sont l'atrazine, ses deux produits de dégradation (la DEA et la DIA) ainsi que l'alachlore. Les concentrations restent faibles, avec un maximum au cours de la pluie du 10 au 12 mai 2000. Les données de Météo France montrent qu'à Ouessant, les vents majoritairement d'ouest sont généralement associés à des précipitations. Ce constat bien établi s'explique par l'arrivée de masses nuageuses sur le continent. Les trois premiers échantillons prélevés à Ouessant ne contiennent aucun des herbicides recherchés au dessus du seuil de détection (figure 2). Ces prélèvements correspondent au début des traitements et à des vents d'ouest ou de sud. Par contre, au cours du prélèvement du 10 au 12 mai, 44 % de la pluie est associée à un vent d'est et montre que la pollution d'Ouessant à cette date provient du continent. Les deux autres prélèvements de mai montrent une faible contamination en DEA (environ 5 ng/l) et sont associés à des vents d'ouest pour 90 %. Le site d'Ouessant peut être contaminé par des apports atmosphériques, apparemment dus aux traitements effectués sur le continent; une faible contamination pourrait persister le long des côtes voire à des points plus éloignés. Cependant, aucune contamination d'origine plus lointaine ne peut être révélée.



Le site de Pleumeur Bodou, à la fois proche de la côte et de cultures, présente une pollution plus marquée. En effet, des concentrations supérieures à 400 ng/L sont mesurées dès le début de mai. L'alachlore est le premier produit mesuré dans les dépôts atmosphériques. En juin, sa concentration chute progressivement au contraire de celle de l'atrazine. Ici, les traitements locaux apparaissent nettement, sans pour autant atteindre des concentrations très élevées. Aucune corrélation directe entre la direction du vent et la concentration en herbicide n'a pu être établie.

A Paris, la contamination atmosphérique est mesurable dès le mois de mars, contrairement aux cas des stations précédentes. Cependant, les concentrations en herbicides n'atteignent 400 ng/L qu'en mai. De juin à août, les concentrations baissent en dessous de 50 ng/L. La terbuthylazine, l'atrazine et la DEA sont les plus fréquents dans les précipitations. L'alachlore est également quantifié à Paris en avril et mai.

A Coulommiers, la saisonnalité est plus marquée, avec un pic de contamination dans la semaine du 22 au 29 mai. Les produits les plus souvent détectés sont les mêmes qu'à Paris et leur répartition sur l'année est similaire, cela s'explique par la proximité de ces deux sites de prélèvement (environ 50 km) et montre l'homogénéité de cette zone géographique.

La contamination à Eclaron résulte surtout de l'atrazine qui présente des concentrations proches de 1 µg/l. Les concentrations des autres herbicides tels que l'alachlore ou le métolachlore sont par contre inférieures alors que celle de la terbuthylazine reste très faible. A Eclaron, la pollution diffère de celle mesurée à Coulommiers ou Paris. Cela s'expliquerait par d'autres pratiques agricoles, ou un comportement particulier de ces molécules au cours de leur transfert atmosphérique.

A Abreschviller, les concentrations diminuent sous le seuil de 200 ng/l, bien que les vents dominants apportent surtout des précipitations par l'ouest. Ce site étant au centre de la forêt vosgienne, l'effet de saisonnalité n'apparaît plus et seule l'atrazine reste mesurable dans la majorité des échantillons. Dans une moindre mesure, cette contamination peut traverser les Vosges (Trautner *et al.*, 1992).

Les insecticides organochlorés

Ces résultats ont fait l'objet d'une publication (Teil *et al.*, 2004). Tous les pesticides organochlorés étaient interdits en France au moment de l'étude (1976 pour le DDT, 1998 pour le lindane (γ HCH). Leur détection dans l'atmosphère laisse à penser que des sources de contamination existent toujours. Il s'agissait donc de savoir si cette contamination était d'origine internationale avec un transport transatlantique, liée au relargage de produits persistant dans les sols ou à des emplois postérieurs à leur interdiction.

L'évolution spatio-temporelle de la contamination en *p,p'*-DDE à l'échelle inter-régionale correspond bien à celle d'une pollution organochlorée résiduelle à l'échelle globale. Aucun cycle saisonnier n'est décelable, la concentration moyenne varie peu suivant les sites et demeure inférieure à 1 ng/l, excepté à Paris (1,2 ng/l). Les plus fortes concentrations ne sont que de l'ordre de 6 ng/l en milieu urbain et de 3 ng/l en zone de culture intensive.

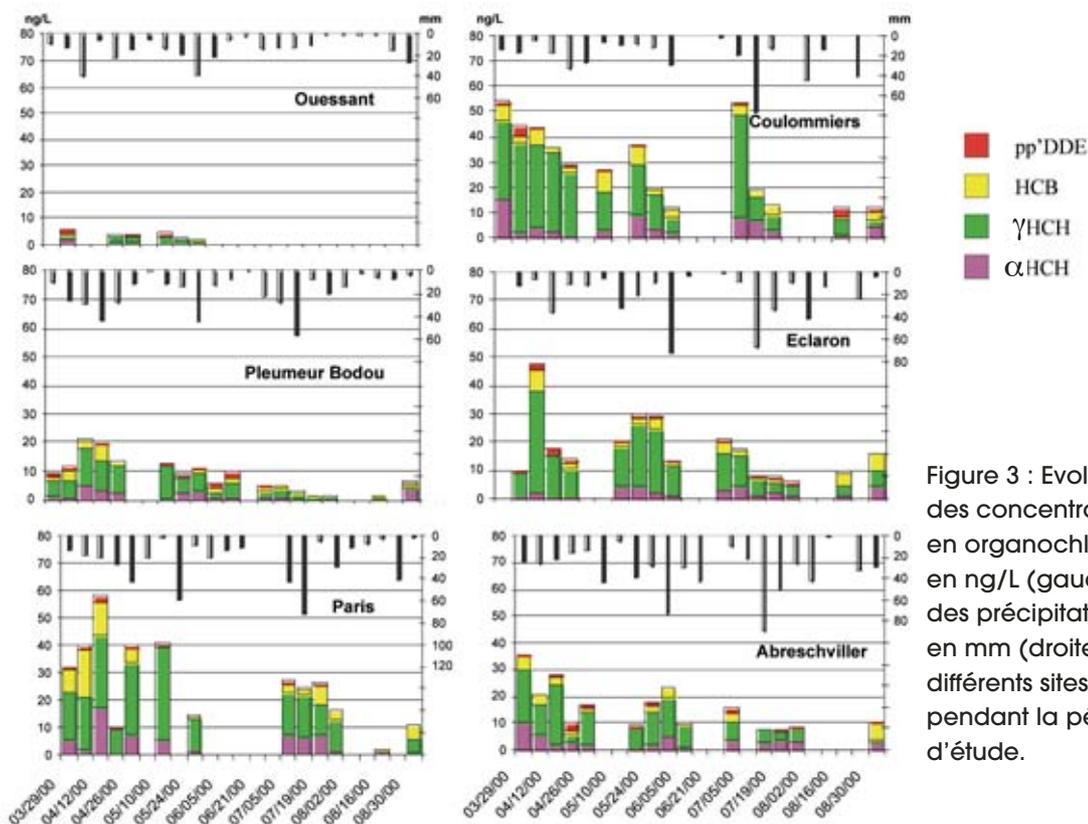


Figure 3 : Evolution des concentrations en organochlorés en ng/L (gauche) et des précipitations en mm (droite) aux différents sites pendant la période d'étude.

Au cours d'un cycle annuel, on observe sur toutes les séries longitudinales, un accroissement des concentrations en lindane d'ouest en est jusqu'à la station de Coulommiers, située en zone d'agriculture intensive. Les valeurs moyennes du rapport des isomères α et γ de l'HCH dans les dépôts

atmosphériques sont inférieures à 0,4, à l'exception de celle du site forestier vosgien (figure 3). Il apparaît que des émissions différées de lindane à partir des sols agricoles maintiennent sa présence dans le compartiment atmosphérique. Cependant, aucun élément ne permet de préciser la part respective des émissions dues à des emplois antérieurs ou postérieurs à son interdiction. En effet, il a été expérimentalement démontré que les émissions différées pouvaient être plus importantes en durée et en intensité, plus d'un an après le traitement, suite à un travail du sol et à l'augmentation des températures au printemps (Voldner and Ly, 1995).

Toutefois, la concentration maximale de 40 ng/l qui est observée à Coulommiers au début du printemps en avril, reste très inférieure à celles de 350 et 160 ng/l de 1992 et 1993. Cette hausse de pollution est aussi plus précoce que celles auparavant observées en Ile-de-France et en Alsace, ce qui renforce l'hypothèse d'une volatilisation accrue lors des labours en début de printemps.

La contamination des retombées en HCB (hexachlorobenzène) est intermédiaire entre celles du lindane et du *p,p'*-DDE et son comportement est différent de celui d'une molécule d'origine agricole. Les plus fortes concentrations 12 et 17 ng/l sont déterminées en milieu urbain. Sous régime de vents d'ouest, ce site reçoit des pollutions urbaines de l'ouest et de l'est de la région parisienne.

CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS : TRANSFERTS MÉTHODOLOGIQUES

Cette étude a permis de mettre en évidence plusieurs points essentiels. Tout d'abord, la contamination atmosphérique est surtout d'origine nationale, seule une faible proportion des organochlorés pourraient provenir d'un transport longue distance, par leur persistance dans l'atmosphère. Ainsi, contrairement aux conclusions d'études régionales, la principale origine des organochlorés réside dans des réémissions locales, Paris et l'Ile-de-France présentant les plus fortes concentrations. La détermination d'un bruit de fond de pesticides organochlorés ou non, concerne seulement des molécules persistant dans le sol.

Pour la majorité des molécules moins persistantes, la contamination est saisonnière et limitée dans l'espace au niveau régional voire même local, notamment pour des molécules relativement volatiles et à faible demi-vie atmosphérique (alachlore, trifluraline...). Cette étude a été prolongée dans le programme Piren Seine par une autre, réalisée à l'échelle locale, autour de la montagne de Reims (Guigon *et al.*, 2003). Les premiers résultats confirment les précédents, montrant que la contamination par la majorité des matières actives reste locale, avec une distinction des types de molécules identifiées selon leur utilisation sur des cultures différentes. Cependant, l'atrazine et la simazine sont toujours détectées à des concentrations très faibles (environ 10-30 ng/l), montrant encore la possibilité de revolatilisation à partir des sols anciennement traités. La modélisation du transfert des molécules sur le bassin de la Vesle intègre le transfert atmosphérique. Le modèle détermine la présence des molécules en fonction de leurs propriétés physico-chimiques et permettra à terme de valider l'importance des transferts atmosphériques selon les matières actives.

La surveillance des AASQA (Associations Agréées pour la Surveillance de la Qualité de l'Air) vis-à-vis des pesticides ne peut concerner que les régions présentant une agriculture intensive et se limiter à la période des traitements de printemps. De plus, elles doivent identifier des listes de molécules prioritaires spécifiques aux activités agricoles dominantes à l'échelle locale (cultures industrielles, vignoble, production fruitière...). Les molécules identifiées dans les retombées présentent non seulement, des valeurs de pressions de vapeur et de demi-vie atmosphérique permettant leur transport par la voie atmosphérique mais avant tout une résistance élevée à la dégradation physico-chimique et biologique dans les sols. Les molécules pilotes pour la contamination de l'air sont à rechercher avant tout parmi des molécules identifiées dans les eaux de surface. Par ailleurs, la nécessité de mise en oeuvre de moyens de contrôle adaptés à la surveillance des pesticides dans l'air ambiant devrait faire obligatoirement l'objet d'études préalables de la qualité des

précipitations. La mise en oeuvre de collecteurs de précipitations est plus simple et le traitement d'échantillons liquides pourrait être ainsi confié aux laboratoires agréés de surveillance de la qualité des ressources en eau. Les deux approches d'évaluation du niveau de contamination de l'atmosphère, air ambiant et dépôts atmosphériques sont complémentaires dans une problématique d'évaluation de risque sanitaire. La mesure dans l'air ambiant est la plus indiquée pour évaluer l'exposition ponctuelle de population à risque, riveraines de zones de traitement agricole, tandis que la mesure dans les dépôts permet d'évaluer un niveau d'exposition moyen de l'ensemble d'une population sur un plus vaste secteur à l'échelle de la région ou des agglomérations.

PARTENAIRES

- Hélène Blanchoud, Marie-Jeanne Teil, Elodie Guigon, Colette Chestérikoff : Laboratoire Hydrologie et Environnement, UMR Sisyphe, UPMC, BC 105, 4 place Jussieu - 75252 Paris Cedex 5.
- Cemagref : Antony (92), Station de Boissy le Chatel (77), I.I.B.R.B.S. : Centre de Giffaumont (52), O.N.F. : Station d'Abreschviller (88), Marine Nationale : Base de l'Île d'Ouessant (29), Programme scientifique GDR Piren Seine (www.sisyphe.jussieu.fr/internet/piren)

PUBLICATIONS ET VALORISATIONS

- Blanchoud H., Garban B., Ollivon D., Chevreuil M., Herbicides and nitrogen in precipitation: progression from west to east and contribution to the Marne river (France). *Chemosphere*, 47, 1025-1031.
- Guigon, E., Rat A., Ledoux E., Chevreuil M., Blanchoud H., Modélisation du transfert des pesticides dans le bassin versant de la Vesle : Principes et intégration du compartiment atmosphérique. Programme Piren-Seine. p. 12.
- Teil M.-J., Blanchard M., Chevreuil M., Atmospheric deposition of organochlorines (PCBs and pesticides) in northern France. *Chemosphere*, 55, 501-514.
- Comité de pilotage INERIS. Groupe hiérarchisation des pesticides dans l'air 2004-2005



APR 1999

RECHERCHE SUR LE DÉTERMINISME DU TRANSFERT DES PESTICIDES ET LEUR DEVENIR DANS LES EAUX DE SURFACE : INCIDENCE SUR L'ÉVALUATION DES RISQUES - TRANSPEST 16

COORDINATEUR SCIENTIFIQUE :

Jean-François DUBERNET

Cemagref, Bordeaux,
Unité de Recherche
Réseau, Epuración,
Qualité des Eaux
(REQE),

Tél. 05 57 89 08 51
jean-francois.dubernet
@bordeaux.cemagref.fr

Ce programme tente de répondre à deux questions paraissant essentielles dans la lutte à mener actuellement sur la contamination des eaux de surface par les pesticides et leur impact sur l'homme et les écosystèmes :

- Quels sont les facteurs environnementaux qui favorisent le transfert des pesticides des sols aux rivières et sur quelle base méthodologique les hiérarchiser ?
- Comment améliorer l'évaluation des flux de pesticides au cours de leur transfert ?

MOTS-CLÉS

Pesticides, eaux de surface, risques parcellaires, risques climatiques, métabolites, produits de dégradation, bassin versant, carbone organique.

Le **premier axe de recherche** concerne l'étude de trois types de facteurs de milieu impliqués dans les processus de transferts des pesticides et actuellement insuffisamment pris en compte dans les évaluations :

- 1) les facteurs structurels** (topographie, nature des sols, distance des parcelles au cours d'eau) et **humains** (pratiques agricoles)
- 2) les facteurs climatiques** (typologie des pluies sur le bassin étudié) et leur influence sur la variabilité spatiale et temporelle de la contamination des eaux de surface du bassin versant,
- 3) les facteurs biogéochimiques**, notamment l'importance et la variation des teneurs en matière organique dissoute et particulaire, et leur influence sur l'adsorption et la migration des pesticides.

Ces trois types de facteurs agissent à des degrés inégaux et fluctuants sur le critère d'exposition in situ (concentration - durée - fréquence), trois critères-clés qui déterminent, à côté de la toxicité intrinsèque des polluants et de leur biodisponibilité, le risque écotoxicologique. Les travaux de ce premier axe visent donc à préciser l'influence de ces facteurs sur l'établissement des flux et bilans, en vue d'affiner l'appréciation des risques sur le bassin versant par zonage géographique, et en déterminant leur variabilité inter-annuelle.

Le **second axe de recherche** vise à améliorer l'évaluation générale des flux de pesticides, par une meilleure prise en compte analytique des pesticides polaires et de certains métabolites et produits de dégradation. A ce jour, ces produits sont plus rarement recherchés en routine, essentiellement en raison de problèmes méthodologiques et de protocoles analytiques mal adaptés. Ces composés étant

eux aussi susceptibles de présenter des risques écotoxicologiques et environnementaux, il faut d'une façon évidente les comptabiliser dans l'évaluation des flux. Nous avons réalisé un effort de recherche particulier pour identifier et doser certains d'entre eux par des méthodes performantes d'analyse à notre disposition actuellement, et avons ainsi contribué à améliorer l'appréciation globale du risque phytosanitaire.

SITE D'ÉTUDE

Le bassin versant du Ruiné, d'une superficie de 5,5 km² pour une surface agricole utile de 4,8 km², est situé en Charente entre Barbezieux et Angoulême sur l'axe nord-sud et à l'est de Cognac. Si le bassin du Ruiné se situe administrativement sur les territoires des communes d'Aubeville et de Blanzac, seules 24 fermes isolées du bourg d'Aubeville y sont localisées et regroupent 150 habitants.

Le Ruiné est un petit cours d'eau de 6,5 km de long. C'est un affluent rive droite du Né, lui-même affluent rive gauche du fleuve Charente en aval de Cognac, à la frontière entre les départements de Charente et Charente-Maritime.

D'un point de vue géologique, les roches en présence font partie de couches crayeuses à faibles pentages datant du Crétacé supérieur et plus précisément du Campanien 1, 2 et 3. Ces trois couches ont une épaisseur d'environ 120 à 140 m.

Une station permanente de suivi de la qualité de l'eau du Ruiné est installée à l'exutoire du bassin. Elle est équipée d'un système de mesure en continu des débits via des sondes de mesure de hauteur d'eau reliées à des centrales d'acquisition de données. Celles-ci asservissent le fonctionnement de deux préleveurs automatiques permettant un échantillonnage intégré hebdomadaire et, en période de crues, un échantillonnage séquentiel pour déterminer la dynamique des matières actives durant les épisodes. Tous les échantillonnages sont réalisés proportionnellement aux volumes d'eau passés.

Malheureusement, ce système n'a pu fonctionner que jusqu'à la fin du mois de juin 2003, date à laquelle l'installation a été pillée, nous obligeant à reprendre des prélèvements hebdomadaires ponctuels.

En complément de ce dispositif, la pluviométrie est enregistrée en temps réel par une station d'acquisition de données située à mi-bassin.

Des enquêtes annuelles sur les pratiques agricoles des agriculteurs du bassin avaient été réalisées par l'unité ADER au cours de la période 1994-1998. La reprise du suivi sur la campagne 2002 a nécessité une remise à niveau des informations sur les exploitations et les pratiques phytosanitaires, ainsi que le recueil des données pour les campagnes 2001 et 2000 quand cela était possible. Les enquêtes ont été réalisées conjointement avec la FREDON Poitou-Charentes (première phase du diagnostic d'exploitation). Les données souhaitées ont été recueillies pour 96 % des parcelles.

ANALYSE DE DONNÉES THÉMATIQUES ET SPATIALES SUR LE MILIEU ET LES PRATIQUES AGRICOLES POUR LA MISE EN PLACE D'INDICATEURS DE RISQUE DE TRANSFERTS DE PESTICIDES VERS LES EAUX SUPERFICIELLES

La gestion durable de l'eau dans les territoires ruraux implique la disponibilité de connaissances et d'outils à différentes échelles spatiales afin de mettre en œuvre le plus efficacement possible les politiques publiques agri-environnementales. L'utilisation de l'outil indicateur est confrontée à trois problèmes : dimension spatiale des indicateurs, validation et disponibilité des données aux échelles décisionnelles. Les travaux conduits sur le bassin du Ruiné visent à développer des méthodes permettant :

- de construire des indicateurs traduisant le risque potentiel de transferts de pesticides à l'échelle du bassin versant,
- de confronter ces indicateurs aux résultats de la surveillance hydrologique en contribuant ainsi à leur validation,
- de permettre l'adaptation de ces indicateurs du petit bassin versant élémentaire au bassin de taille intermédiaire, échelle privilégiée pour l'aide à la décision.

D'autre part, une réflexion a été engagée avec la FREDON Poitou-Charentes, auteur des diagnostics CORPEN sur les parcelles sur le bassin versant du Ruiné, pour la prise en compte au sein du système d'information des résultats des diagnostics d'exploitation et leur comparaison aux indicateurs produits à l'échelle du bassin versant.

Résultats obtenus pendant la durée du programme

Les résultats obtenus s'appuient donc sur une chronique de données pluriannuelle sur les pratiques agricoles (données d'enquêtes et visites de terrain) et sur les données hydrologiques et de qualité de l'eau acquises entre 1994 et 2002 sur ce petit bassin versant agricole.

Plusieurs variantes de l'indicateur produit (PhytoBV) ont été calculées sur cette période (global, par rapport à une matière active particulière, annuel ou sur une rotation). Elles ont pour caractéristiques communes :

- la définition comme objet spatial de référence de **l'entité homogène de bassin versant** pour les critères constitutifs choisis,
- la prise en compte de critères de **sensibilité structurelle** (pente, distance, sol) et sur **les pratiques agricoles** (typologie de pratiques, calendrier de traitement et apports des différentes matières actives, rotations).

Après détermination par analyse spatiale (ARCGIS) des entités homogènes de bassin versant pour les critères de sensibilité structurelle et de pratiques choisis, plusieurs méthodes ont été testées pour combiner entre elles les différentes variables constitutives de l'indicateur : analyse statistique par critère puis agrégation des critères (variante de la méthode des scores), ou analyse multicritère (méthode Electre). La tendance à amplifier les écarts de l'analyse multicritère ou de sa méthode de représentation s'est confirmée dans les différents essais réalisés. En effet, on observe des résultats différents sur la classification d'une même variable unique et discrète par rapport à la méthode par agrégation. Mais la spatialisation finale de l'indicateur demeure cohérente.

Les pratiques agricoles sont analysées soit dans leur globalité (intensité des pratiques, apports globaux en pesticides), soit plus spécifiquement pour les matières actives suivies dans le cadre de la surveillance hydrologique, à savoir des triazines, l'atrazine et la terbuthylazine, et des phénylurées : le diuron et l'isoproturon. Des itinéraires types de traitement sont établis pour chaque culture par analyse statistique. Ainsi, l'étude statistique du nombre de passages et de produits appliqués sur la vigne montre que la stratégie de désherbage médiane repose sur 3 produits appliqués en 2 passages. Une évaluation de l'intensité des pratiques est calculée à partir des écarts par rapport à la moyenne des pratiques pour cette molécule (on se réfère aux doses en g/ha appliquées sur les parcelles) pour une même culture. Si l'on considère une seule molécule, par exemple l'atrazine, la moyenne de la dose appliquée sur toutes les parcelles traitées est calculée. Puis, pour chacune des parcelles, on calcule la différence avec la moyenne, et le pourcentage d'écart pour éviter des valeurs négatives en cas de sous-traitement. Lorsqu'on considère plusieurs molécules, on calcule de même les pourcentages d'écart de chacune des molécules puis on effectue ensuite la moyenne des moyennes. Ces valeurs sont ensuite rapportées à l'objet spatial de référence.

L'indicateur produit (PhytoBV) est spatialisé : les entités homogènes de bassin versant sont déterminées par analyse spatiale et permettent de créer le fichier de données à la base des analyses statistiques. L'indicateur calculé pour chaque objet spatial de référence peut être cartographié pour déterminer les zones du bassin les plus sensibles et analyser globalement pour déterminer le risque potentiel de transfert vers les eaux pour l'année

considérée. Pour que ce risque devienne effectif, il faut considérer les caractéristiques climatiques : fréquence et intensité des événements pluvieux au cours de l'année. Se pose alors le problème de la validation de l'indicateur. En effet, la simple détermination entre la valeur globale de l'indicateur une année donnée ne peut suffire, car un climat sec peut limiter les flux mesurés dans le cours d'eau alors que le risque de transfert est conséquent. C'est donc sur les liens statistiques existant entre les variables constitutives de l'indicateur d'une part, et les débits et concentration en matière active dans le ruisseau d'autre part, que nous nous sommes focalisés. Si cette corrélation est avérée, on peut alors penser que l'indicateur calculé a un sens puisqu'il s'appuie sur des variables qui contribuent à expliquer le flux dans le ruisseau. Le modèle statistique qui calcule la contribution de chaque objet spatial de référence au flux global peut également fournir des poids relatifs à chaque variable, mais ces poids ne sont valables que dans le contexte pédo-climatique du bassin étudié. En revanche, la méthode de calcul de l'indicateur PhytoBV est transférable à d'autres sites.

Un modèle statistique (SAS) a été développé pour analyser la corrélation entre les caractéristiques structurelles des parcelles (pente, sol), les dates d'application des herbicides et les quantités appliquées, et les données du suivi hydrologique (débit, concentrations). Les premiers résultats obtenus sur une chronique de données concernant l'atrazine (sur deux années) établissent la corrélation entre les variables constitutives de l'indicateur et le flux mesuré dans le cours d'eau pour le pesticide étudié. Le modèle permet de calculer la contribution spécifique de chaque parcelle au flux mesuré dans le cours d'eau et de valider a posteriori la méthode de calcul de l'indicateur de risque de transfert à l'échelle du bassin versant. En revanche, il est difficile de conclure pour l'instant sur la confrontation de l'indicateur mis au point et testé dans ce programme aux résultats des diagnostics CORPEN, peu adaptés à l'échelle du bassin versant car centrés sur la parcelle et n'assurant donc pas la prise en charge de la continuité linéaire et spatiale du risque. Une autre difficulté réside dans le fait que les diagnostics ont été réalisés par plusieurs personnes, sur quelques exploitations, avec une restitution sous forme papier peu standardisée. La synthèse et la transcription dans le SIG est donc délicate, car nécessairement sujette à une certaine interprétation et homogénéisation de la formulation. Une première comparaison spatiale avec les résultats de l'indicateur a cependant été tentée à l'échelle des parcelles qui montre la difficulté de cet exercice mais aussi la complémentarité des deux méthodes. Cette complémentarité des deux approches devrait fournir aux instances décisionnelles des outils différenciés en fonction des échelles, des problèmes posés et des solutions à rechercher.

Perspectives

La méthodologie de construction de l'indicateur ayant été développée dans ces travaux, il s'agira de poursuivre et améliorer la méthode de confrontation aux données issues de mesures chimiques de qualité des eaux, développée en 2004, et d'autre part de confronter les valeurs de l'indicateur à l'échelle du bassin versant aux indicateurs développés à l'échelle de l'exploitation.

Par ailleurs, la mise en œuvre de mesures agri-environnementales sur une partie importante du bassin et du linéaire de cours d'eau (CAD territorialisé Ruiné) est effective et s'est mise en place en 2004. La surface totale des parcelles engagées en CAD est de 137 ha dans le bassin soit 28,92 % de la SAU et les parcelles engagées bordent 5,06 km du Ruiné, soit 38,5 % de la longueur du cours d'eau. Les chroniques de données acquises sur le bassin et l'adhésion des agriculteurs permettraient, si la possibilité en est donnée aux chercheurs impliqués et avec l'aide des instituts techniques partenaires (FREDON, BNIC), d'évaluer l'efficacité environnementale des mesures mises en place, leur acceptabilité et la capacité des indicateurs à prendre en compte ces modifications des pratiques.

TYPOLOGIE DES ÉVÉNEMENTS PLUVIEUX

Le facteur aléatoire et naturel déclenchant la contamination des hydrosystèmes par les produits phytosanitaires est la pluviométrie. Tous les événements pluvieux ne produisent pas

les mêmes effets. Il convient donc de les classer en fonction de leur comparabilité sur le plan de l'intensité de la pluviométrie, de l'état de remplissage des réservoirs du sol, de leur positionnement par rapport aux épandages (typologie des événements pluvieux). Dans le cas de la mise en place de dispositifs de correction, ce classement permettra de mesurer leur impact par référence à la situation antérieure pour un type de pluie donné, en comparant les événements de la série ressortant comme les plus comparables.

Après une revue de la bibliographie, notre approche s'est organisée en deux points : étude des chemins de l'eau pour aboutir à un modèle hydrologique conceptuel fonctionnant sur le Ruiné, puis traitement statistique des épisodes pluvieux pour les classer en terme d'inter-comparabilité.

On a admis ici que le bilan hydrologique d'un bassin versant est composé de 3 termes : les entrées (on ne considère que la pluie), les sorties et les stocks. Les variations de stocks dépendent de critères intrinsèques au système. Le sol se comporte comme un réservoir qui se remplit et se vide dans d'autres réservoirs. On considère deux réservoirs, le sous-sol étant considéré comme de taille illimitée et le sol comme étant de taille constante.

Le modèle reproduit assez fidèlement les données observées en tendance, et en aucun cas, il ne prédit d'augmentation de débit en contradiction avec les données observées.

On considère par définition, sur ce bassin versant d'ordre 2 de Strahler, qu'une crue est caractérisée par une variation de débit supérieure à 15 l/s sur une période de 12 heures.

Nous avons ensuite choisi de comparer des événements de 48 heures soit 12 heures de crue et 36 heures de décrue. Ces événements sont comparés sur les critères de niveaux d'eau dans les réservoirs et de débit du cours d'eau. La variable pluie est indirectement prise en compte via les niveaux d'eau dans les réservoirs.

Les événements ainsi définis sont classés en utilisant la Classification Ascendante Hiérarchique. On réunit les deux classes les plus proches en prenant comme distance entre deux classes la perte d'inertie que l'on encourt en les regroupant. La méthode utilisée est la méthode de Ward (distance entre les barycentres) qui consiste à agréger les individus qui font le moins varier l'inertie intra-classe.

206 événements de crues ont ainsi été répertoriés et inter-classifiés. Les sauts d'inertie permettent de mettre en évidence 6 classes qui correspondent à des combinaisons de niveaux de remplissage différents des réservoirs.

SUIVI DES PRODUITS PHYTOSANITAIRES

La difficulté de cette étude réside dans le fait qu'elle implique un grand nombre de composés issus de différentes familles chimiques et caractérisés par des propriétés physico-chimiques très variées, tant au niveau de leur polarité que de leurs propriétés acido-basiques. Ces composés étant présents à l'état de traces dans les eaux, une étape de préconcentration est nécessaire avant leur analyse par chromatographie en phase liquide (HPLC). Cette étape de préconcentration est réalisée par extraction sur phase solide (SPE) qui consiste à percoler l'échantillon d'eau sur un adsorbant convenablement choisi afin qu'il retienne les composés que l'on désire analyser. Il suffit ensuite d'éluer du support d'extraction les composés d'intérêt et de les analyser par chromatographie. Il n'existe pas d'adsorbant permettant l'extraction simultanée de composés appartenant à une large gamme de polarités. En effet, pour l'extraction de composés moyennement polaires, l'extraction se fait sur des supports comme la silice greffée C18 ou les copolymères de polystyrène-divinylbenzène (PS-DVB) tels que le PLRP-S (Polymer Laboratories). Avec ces adsorbants les rendements d'extraction restent faibles avec les molécules les plus apolaires tels que la trifluraline et l'aclonifène par exemple. Un compromis a donc été trouvé en effectuant des ajouts de méthanol dans l'échantillon avant percolation. Différents volumes d'échantillons synthétiques, contenant des quantités connues de molécules phytosanitaires, ont été testés avec des ajouts de méthanol afin d'obtenir les rendements optimum d'extraction. On observe une nette amélioration des rendements pour les

composés les plus hydrophobes comme la trifluraline et l'aclonifène notamment. La variation, selon le taux de solvant ajouté est faible pour ces composés ; en revanche, pour les solutés les plus polaires, les rendements restent tout à fait corrects pour un taux de méthanol de 10 % ou 15 %.

Puisque la méthode est destinée à l'analyse de nombreux échantillons d'eau naturelle, il faut s'assurer de sa bonne répétabilité. Celle-ci a été testée en percolant des échantillons d'eau dopée à 5 ppb ($\mu\text{g/l}$) et 10 % de méthanol. L'étude des coefficients de variation montre que la méthode globale (extraction, séparation, détection) est répétable. Ces résultats confirment cependant la difficulté de travailler avec des composés très hydrophobes comme la trifluraline pour laquelle des rendements plus faibles que pour les autres composés, en raison de problèmes d'adsorption, s'accompagnent de coefficients de variation sur les mesures d'aires plus élevés que pour les autres composés.

La chromatographie de partage à polarité de phases inversée apparaît comme une méthode de choix pour la séparation de ces composés. Deux types d'extraction ont été utilisées, l'extraction «on line» et l'extraction «off line». Au cours de ce travail, trois colonnes de caractéristiques différentes ont été utilisées ("on line"). Il s'agit de colonnes contenant toutes des phases de silice greffée C18 mais provenant de différents fournisseurs :

- période 1 (août 01/ août 02): Equisil BDS-C18 250 x 4,6 mm d.i., 5 μm
- période 2 (sept 02/ déc 03): Shimadzu AP, 250 x 4,6 mm d.i., 5 μm , thermostatée à 40°C.
- période 3 (janv. 04/ aout 04): Hypersil 250 x 4,6 mm d.i., 5 μm

En outre une colonne ODS II C18 250x4mm d.i. 3 μm thermostatée à 30°C a également été utilisée sur toute la durée du programme (extraction "off line") et incluant des molécules non prises en compte dans les méthodes "on line" produits de dégradation des urées, chloroacétanilides. Dans tout les cas, la phase mobile est constituée par un mélange eau / acétonitrile. L'élution se fait par application de gradients adaptés à chaque colonne. Dans ces conditions, les composés les plus polaires sont élués les premiers, quand la phase aqueuse est majoritaire en phase mobile ; les composés les plus hydrophobes sont ensuite élués lorsque la fraction de solvant organique augmente.

Les produits de dégradation des triazines et de certaines urées substituées ont également été recherchés. En ce qui concerne l'atrazine, bien que les résultats obtenus sur des échantillons «synthétiques» (dopés) pour la mise au point analytique soient concluants, dans les échantillons de sols prélevés au champ et dans les sédiments du cours d'eau, les dérivés hydroxylés n'ont jamais été mis en évidence.

Les composés les plus fréquemment détectés sont les triazines ainsi que leurs composés déalkylés. Il est à noter que les concentrations en déséthylatrazine (DEA) sont d'un niveau bien plus élevé que celui des autres molécules. En ce qui concerne les urées (diuron, isoproturon, linuron et leurs produits de dégradation), l'aclonifène et la trifluraline, ils ne sont détectés que ponctuellement. En revanche la recherche des nouvelles molécules mises sur le marché, souvent polaires à très polaires, n'a pas été ou très peu abordées dans le cadre de ce programme. Ce travail reste à développer.

ETUDE DE LA MATIÈRE ORGANIQUE

Les premières données sur le carbone organique sur le bassin du Ruiné ont été acquises au cours de cette étude. Dans cette partie du programme, il s'agissait d'évaluer le rôle de la matière organique dans la dynamique de transfert des pesticides des sols au cours d'eau, notamment du carbone organique particulaire (COP > 0,7 μm) et dissous (COD < 0,7 μm).

Un premier bilan des teneurs en COP et COD a été effectué de janvier 2001 à décembre 2004 :

- 1) sur des prélèvements hebdomadaires, intégrés en fonction du volume d'eau écoulé à l'exutoire du bassin ou sur des prélèvements ponctuels à partir de juin 2003 en raison de la détérioration du matériel.
- 2) sur des prélèvements horaires, en période de crue au-delà d'un certain seuil de débit fixé en fonction de la période étudiée.

L'hydrologie du Ruiné durant cette période est caractérisée par de fortes crues (débits pouvant s'élever jusqu'à 450 l/sec) en janvier-février-mars 2001, suivies d'un étiage exceptionnellement long (débits < 5 l/sec) de 20 mois c'est-à-dire jusqu'en février 2003. Les débits de l'année 2004 reprennent l'allure régulière des cours d'eau de région océanique avec un étiage estival et des crues hivernales

En résumé, les caractéristiques des étiages sont les suivantes : les teneurs en MES se situent entre 10 et 30 mg/l avec une proportion de matière organique très variables comprise entre 5 et 20 %, et due aux fluctuations des développements autotrophes et hétérotrophes du cours d'eau. Durant les étiages, les teneurs en COD (5,5 mg/l en moyenne) sont toujours supérieures à celles en COP (3,5 mg/l en moyenne).

En période de crue, les teneurs en MES s'élèvent entre 200 et 400 mg/l avec un maxima manifestant presque toujours une hystérésis plus ou moins marquée par rapport au pic de crue. Les teneurs en carbone organique des suspensions sont en général comprises entre 3 et 7 % ce qui conduit à des valeurs moyennes du COP comprises entre 10 et 15 mg/l, les teneurs en COD se maintenant entre 5 et 10 mg/l. Les fortes teneurs en MES lors des crues correspondent aux apports de sols. Les teneurs moyennes en carbone organique des MES sont alors proches de 4 %, valeur qui reflète bien les valeurs moyennes connues des sols du bassin versant. On peut admettre que lorsque le dépassement de ce seuil est observé, le carbone organique particulaire peut avoir des origines diverses selon les saisons : endogène (production algale, biofilms benthiques) ou exogènes (végétaux des berges). L'interprétation des données de carbone organique (COP et COD) est encore en cours. Ce point spécifique de l'étude fera l'objet d'un chapitre de la thèse de Madame Moreau-Sucret dont la soutenance est prévue pour la fin de l'année universitaire 2005.

PARTENAIRES

- Cemagref, Bordeaux, Unité de Recherche Aménités et Dynamiques des Espaces Ruraux (ADER)
- ESPCI Paris, Laboratoire Environnement et Chimie Analytique
- Université Pierre et Marie Curie Paris VI, Laboratoire de Biogéochimie et Chimie Marines
- Université Bordeaux I, DGO - UMR EPOC 5805
- FREDON Poitou-Charentes

PUBLICATIONS ET VALORISATIONS

- Dubernet J.F., Vernier F., Delmas F., Lalanne J., Lesclaux S., Schehr O., Uny D. (2004) Mise en place d'indicateurs de risque de transfert de pesticides à l'échelle du bassin versant et confrontation aux résultats de suivi hydrologique et de qualité des eaux superficielles - application au bassin versant du Ruiné (16). XXXIV Congrès du Groupe Français des Pesticides. Dijon 26-28 mai 2004, 11p.
- Lalanne J. (2004) Analyse de données thématiques et spatiales pour la mise en place d'indicateurs de risque de transferts de pesticides vers les eaux : cas du bassin versant du Ruiné (16) - Master statistiques Pro MSRO.

- Lesclaux S. (2003). Etude des données hydrologiques d'un bassin versant : Modélisation et classification des crues. Cas du bassin versant du Ruiné (Charente) .Rapport Cemagref, UR Qualité des Eaux, groupement de Bordeaux, 47.
- Lesclaux S. (2002). Modélisation hydrologique d'un bassin versant en vue de l'étude des transferts de pesticides : Cas du bassin versant du Ruiné (Charente) . Mémoire de DESS «Modélisation et Analyse Statistique de l'Information», Université de Bretagne Sud, 38 p. + annexes.
- Macary F., Vernier F. (2005). Indicateurs environnementaux pour le zonage de risque potentiel de transferts de pesticides à l'échelle de bassins versants : méthodologies pour un changement d'échelle- Colloque GFP 2005, Marne-la-vallée
- Moreau-Sucret C. Amélioration de la caractérisation des flux de pesticides dans les eaux de surface à l'échelle de petits bassins versants et approche de leur interaction avec la matière organique. Thèse de doctorat de l'Université de Bordeaux I (soutenance prévue fin 2005)
- Moreau-Sucret C. et al (2003) : Dynamique des pesticides et de la matière organique naturelle à l'échelle d'un petit bassin versant. Actes du 5^{ème} Congrès International du GRUTTEE «Micropolluants et microorganismes dans l'environnement», 11 et 12/09/2003 Paris, 5 pages.
- Munaron D. (2004). Etude des apports en pesticides aux eaux côtières du Bassin de Marennes-Oléron - (Charente Maritime). Thèse de doctorat de l'université Pierre et Marie Curie Paris VI. Septembre 2004
- Schehr O. (2003). Contribution à la mise en place d'indicateurs dans le bassin du Ruiné. Mémoire de stage de fin d'études d'ingénieur ENITAB.
- Vernier F., Le Gat Y. (2005) - Linking environment, agricultural practices and hydrological monitoring data to develop pesticide transfert risk indicators at a watershed level - Colloque SETAC - Lille, Mai 2005
- Vernier F., Le Gat Y., Dubernet J.F. (2005) Mise en place d'indicateurs de risque de transfert de pesticides à l'échelle du bassin versant : confrontation aux données de suivi hydrologique et de qualité des eaux superficielles - Colloque GFP 2005, Marne-la-vallée



APR 2002

STOCKAGE DANS LES SOLS À CHARGES VARIABLES ET DISSIPATION DANS LES EAUX DE ZOOCIDES ORGANOCHLORÉS AUTREFOIS APPLIQUÉS EN BANANERAIES AUX ANTILLES : RELATION AVEC LES SYSTÈMES DE CULTURE

COORDONNATEUR SCIENTIFIQUE:

Yves-Marie CABIDOCHÉ

INRA Antilles-Guyane,
Unité de Recherche
Agropédoclimatique

97170 Petit-Bourg

Tél. 05 90 25 59 64
cabidoch@antilles.inra.fr

INTRODUCTION

Les bananeraies des Antilles françaises ont été généralement des monocultures intensives durant la deuxième moitié du XX^e siècle. Parmi les intrants apportés en abondance ont figuré des insecticides organochlorés, pour lutter contre le charançon *Cosmopolites sordidus*, dont la larve attaque les bulbes des bananiers : dieldrine et HCH jusque dans les années 60, chlordécone de 1972 à 1993.

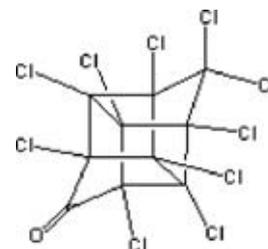
Deux spécialités commerciales à 5 % de chlordécone ont été importées aux Antilles, d'usage réservé aux bananeraies :

- Képone[®], fabriqué aux USA jusqu'en 1976, mis sur le marché aux Antilles de 1972 à 1978 (interdit aux USA depuis 1977). L'interdiction a suivi un accident de production industrielle aux USA, qui a montré la dangerosité du produit pour la santé des ouvriers, et pollué durablement les terrains environnants et les sédiments de la « James River ».
- Curlone[®], sous licence de la société Calliope, mis sur le marché aux Antilles de 1981 à 1993.

Les rares données décrivant cette molécule et son comportement, sont suffisantes pour être inquiétantes.

Sa composition chimique laisse présumer :

- Une stabilité thermodynamique élevée, et une résistance à la dégradation chimique ou biologique : photodégradation aux UV seulement après mobilisation par l'éthylène-diamine, biodégradation minime par des *Pseudomonas* sp conduisant à une di-hydrogénation de 2 sur 10 des atomes de chlore, en milieu de culture (Georges et Claxton, 1988).
- Une hydrophobie particulièrement élevée, entraînant une faible solubilité et une forte sorption sur la matière organique des sols : le coefficient de partage (K_{oc}) entre la fraction équivalente sorbée sur le carbone du sol et la fraction soluble dans l'eau serait de 17 500 L kg⁻¹.



Snegaroff (INRA Phytopharmacie Versailles) a publié en 1977 les premières données sur la contamination des eaux et des sols de la Guadeloupe par le chlordécone. Les prélèvements réalisés début 1975, donc après 4 ans

1 Aux Antilles, on désigne par le terme de "racines" les plantes alimentaires dont on consomme des organes souterrains d'accumulation d'amidon : igname, madère=dachine, patate douce, malaga=choux caribes, dictame...

d'épandage, montraient déjà des teneurs alarmantes, de 9,5 mg/kg dans des andosols de Capesterre Belle-Eau. Les eaux de rivières montraient une faible pollution, inférieure à 0,2 µg/L. L'étude soulignait le besoin «d'étudier la stabilité du chlordécone et ses voies de dégradation dans ces sols tropicaux, ses possibilités d'accumulation, de migration, de contamination des plantes...nécessaires pour que ce produit ait son autorisation définitive d'emploi».

Kermarrec (INRA Zoologie Antilles-Guyane) a coordonné de 1978 à 1980 une étude, co-financée, par le Ministère de l'Ecologie, sur l'impact du chlordécone sur les animaux. Dans la zone bananière, on a notamment trouvé jusqu'à 0.5 mg/kg chez les rats, et 2 à 5 µg/kg dans les crustacés et poissons (100 fois moins). Le rapport concluait sur le besoin de prolonger les études écotoxicologiques.

L'arrêt de vente du Képone® (1978) a peut-être contribué à l'absence de suite à ces recommandations.

Depuis la détection des multiples pollutions par les organochlorés des eaux captées aux Antilles, en 1998, le CIRAD-Fihor et l'INRA ont engagé un lourd investissement sur l'étude des transferts d'intrants par les eaux sous les bananeraies. L'option a été prise de bien connaître les voies d'écoulements (concentration de la pluie, ruissellement, drainage, alimentation des nappes) et d'évaluer leur rôle dans les transferts des engrais et des insecticides (cadusafos et fosthiazate) actuellement utilisés. Il était effectivement urgent d'évaluer l'impact environnemental des produits actuels, qui, bien que biodégradables, sont susceptibles d'être entraînés précocement par des écoulements forcés. Cette recherche, qui engage 4 ETP chercheurs et 2 doctorants, a été soutenue par un Fonds commun INRA-CIRAD et par les DocUP Guadeloupe et Martinique 2000-2006 (Axe G, instruit par les DIREN).

Cependant, devant l'ampleur croissante de la surface de sols identifiés comme pollués par les organochlorés aux Antilles (faiblement par dieldrine et l'HCH, fortement par le chlordécone), et suite aux problèmes de contamination des «racines», obligeant les Préfets à prendre des arrêtés conditionnant leur commercialisation à une analyse «négative», l'INRA a mis en œuvre en 2003 un projet de diagnostic commun sur les deux îles avec le CIRAD-Fihor (3 ETP chercheurs, 2 VCAT, largement co-financé par le MEDD), destiné à apporter des réponses claires à des questions clés :

- Le chlordécone se dégrade-t-il dans les sols tropicaux volcaniques ?
- Le chlordécone s'est-il fortement stocké dans les sols ?
- Quelles sont les zones en apparence les plus polluées ?
- Quelle sont les voies de décontamination des sols ?
- Combien de temps cela prendra-t-il ?
- Peut-on envisager une bio-remédiation ?
- Est-on sûr que les plantes à organes aériens récoltés ne sont pas contaminées ?

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les sols ont été analysés sur une sélection d'un réseau de parcelles de cultures bananières en andosols, dont le choix avait été antérieurement commandé par la diversité des systèmes de culture bananiers (Clermont-Dauphin *et al.*, 2004) : depuis les bananeraies renouvelées tous les trois ans après de profonds travaux du sol, recevant des quantités massives d'engrais et de pesticides, jusqu'à des bananeraies dites pérennes, dont on laisse les rejetons se relayer depuis plusieurs décennies, et parfois sans intrant. Sur les couches 0-30 cm, 30-50 cm, et parfois 70-90 cm ont été déterminés les densités apparentes, le pH, les teneurs en carbone (SOC) et en chlordécone. Des prélèvements de 6 échantillons par couche ont été réalisés sur deux positions topographiques de chaque parcelle : haut convexe et bas concave, respectivement zone de départ et d'accumulation de terre suite à une éventuelle érosion hydrique superficielle. Quelques parcelles supplémentaires déjà

analysées par les Services de la Protection des Végétaux de Guadeloupe et Martinique, sur des sols différents, ont fait l'objet d'analyses et d'enquêtes complémentaires.

La sélection a été orientée par la fiabilité et la diversité des chroniques rétrospectives d'apport de chlordécone et plus généralement d'itinéraires techniques pratiqués pendant et après la période d'apport. Ont ainsi été établis :

- les calendriers de successions d'occupation des sols par la végétation naturelle ou spontanée et les cultures,
- pour ces dernières, les rythmes et profondeurs de travail du sol,
- les dates et doses d'apport du chlordécone dans les phases de bananeraies, de densité de plantation connue.

Un premier modèle de cadrage simple du comportement du chlordécone dans les sols a été développé. Son originalité réside dans la prise en compte de la stabilité de la molécule, de sa très forte affinité pour la matière organique des sols, de la dilution mécanique plus ou moins forte du carbone et du chlordécone par le travail du sol, et du fonctionnement hydrologique redistributif de la bananeraie.

On suppose que l'évolution d'un apport S_i (en kg ha^{-1}) effectué en année i suit une cinétique de premier ordre en fonction de la lame drainante annuelle D cumulée entre l'année i et l'année j , $\sum_j^j D$ (en mm), selon l'équation :

$$S_{ij} = S_i \times \exp\left(\frac{-10}{K_{oc} \times S_{soc}} \left(\sum_{n=i}^{i+a} D_{red} + \sum_{n=i+a+1}^j D_{bil} \right)\right)$$

où S_j désigne le stock restant en année j de l'apport de l'année i , S_i .

Les deux seuls paramètres sont S_{soc} , désignant le stock de carbone sur les 30 premiers centimètres (Mg ha^{-1}), qui ont fait l'objet des mesures de teneur en chlordécone, et K_{oc} , le coefficient de partage entre le chlordécone adsorbé sur le carbone, et celui en solution (L kg^{-1}). Le K_{oc} a été pris à 17500 L kg^{-1} (source : <http://risk.lsd.ornl.gov/cgi-bin/tox>), valeur compatible avec $\log K_{oc} = 3,38$ (Howard, 1991).

Concrètement, ce modèle suppose un système ouvert, où la fraction en solution est déplacée par l'excédent de bilan hydrique, puis immédiatement renouvelée en fonction du stock restant, selon le K_{oc} .

Le système de culture est pris en compte à deux niveaux :

- S_i est l'apport de chlordécone, éventuellement redistribué sur la profondeur de travail du sol (z_{tr}) quand ce dernier existe, donnant alors un stock égal à $S_i \times 0,3/z_{\text{tr}}$ si $z_{\text{tr}} > 0,3$, pour les 30 premiers centimètres.
- Les a premières années suivant l'apport (3 ans pour les bananeraies labourées, 5 ans pour les pérennes), est égal au drainage forcé D_{red} imposé au pied du bananier par son effet concentrateur de la pluie, précisément là où était épandu le chlordécone. $D_{red} = 1,2 \times P$ où P est la pluviométrie annuelle (mm) pour les bananiers en simples rangs ou en quinconce (Sansoulet *et al*, 2004), et $D_{red} = 1,5 P$ pour les bananiers en doubles rangs (données acquises dans le cadre du projet). La lame drainante annuelle est estimée par bilan hydrique, selon l'équation :

$$D_{bil} = P - ETR - R$$

où ETR est l'évapotranspiration annuelle (mm) et R le ruissellement (mm) pris comme 5 % de la pluviométrie (Cattan *et al*, sous presse), cette dernière étant évaluée par interpolation des isohyètes annuelles (documents ORSTOM).

Les stocks restants des différents apports sont éludés en parallèle, ce qui suppose que l'on n'a jamais atteint la saturation de la capacité de stockage du carbone, même en 20 ans

d'apports effectifs. Cette hypothèse apparaît légitime au sens où le rapport entre la quantité cumulée de chlordécone apportée et le stock organique ne dépasse pas 2 %.

$$S_j = \sum_{i=1972}^j \left[S_i \times \exp\left(\frac{-10}{K_{oc} \times S_{soc}} \left(\sum_{n=i}^{i+a} D_{red} + \sum_{n=i+a+1}^j D_{bil} \right) \right) \right]$$

Le stock S (kg ha^{-1}) de chlordécone restant en année j est finalement :

Ce modèle permet le calcul d'un majorant du stock restant (hors biodégradation), selon le K_{oc} de chaque pesticide organochloré : 17500 L kg^{-1} pour le chlordécone, 10600 L kg^{-1} pour le dieldrine, 3380 L kg^{-1} pour le beta-HCH.

RÉSULTATS INTERMÉDIAIRES

Pas ou très peu de contamination interparcellaire, ni de transferts superficiels intra-parcellaires.

Les parcelles n'ayant jamais reçu de chlordécone n'en contiennent pas, sauf quelques traces mesurables sur quelques dizaines de mètres dans les gouttières concaves réceptrices de l'eau de ruissellement de parcelles d'amont contaminées.

A l'intérieur des parcelles, les zones hautes convexes de départ éventuel ne montrent pas de teneurs plus faibles que les zones concaves d'accumulation éventuelle : les transferts d'agrégats par érosion hydrique superficielle sont nuls dans les andosols sous bananeraie pérennes, et faibles sous les cultures labourées pendant la période où le sol est nu. Les appauvrissements – enrichissements ne peuvent alors être détectés sur les teneurs des couches 0-30 cm, les labours ayant homogénéisé le sol jusqu'à une profondeur supérieure. Sur des sols plus susceptibles de transport d'agrégats comme les sols brun-rouille à halloysite, le différentiel ne sera éventuellement lisible que par une approche des stocks totaux sur un mètre, ces sols ayant en général fait l'objet autrefois de labours très profonds.

Validation du modèle

La comparaison des teneurs en chlordécone données par le modèle et des teneurs mesurées dans les 30 premiers centimètres de sol (figure 1) est remarquable pour les andosols des bananeraies pérennes, où l'essentiel du chlordécone est contenu dans le premier décimètre, la couche 0-30 cm contenant la totalité détectable. Elle est encore très bonne, dans l'intervalle d'incertitude de profondeur de labour, pour des parcelles en bananeraie ou autres occupations, travaillées au moins une fois, et peut-être également dans les sols ferrallitiques de Guadeloupe riches en oxyhydroxydes, même si les variables d'entrée sont encore à affiner. En revanche, la comparaison modèle-mesure suggère des K_{oc} apparents plus faible pour les sols allophaniques jeunes sur cendres et ponces de Martinique (6000 à 7500 L kg^{-1}), et encore plus pour les sols bruns-rouille argileux à halloysite (2500 à 3500 L kg^{-1}).

DISCUSSION, CONCLUSIONS INTERMÉDIAIRES

Partout où les chroniques d'apport de chlordécone et de travail du sol sont quantitativement bien renseignées, le modèle d'évolution par les eaux de drainage selon une cinétique de premier ordre rend bien compte des teneurs résiduelles en chlordécone dans les andosols et sols ferrallitiques de Guadeloupe et Martinique.

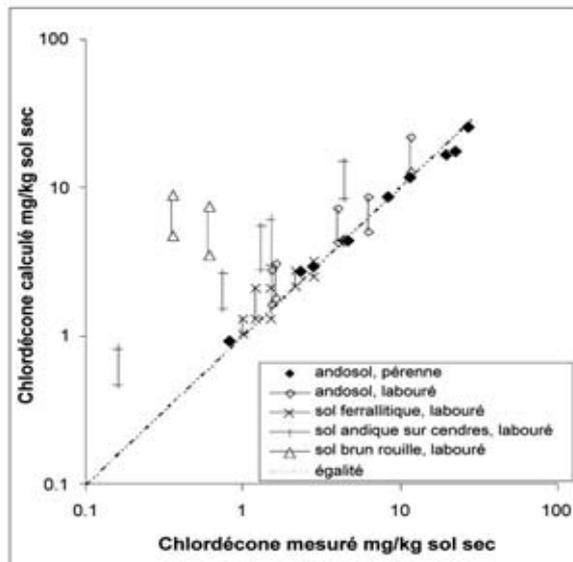


Figure 1 : Comparaison des teneurs en chlordécone calculées par le modèle d'éluion de premier ordre et des teneurs mesurées sur la couche 0-30 cm de sols contaminés de Guadeloupe et Martinique ($K_{oc} = 17500 \text{ L kg}^{-1}$).

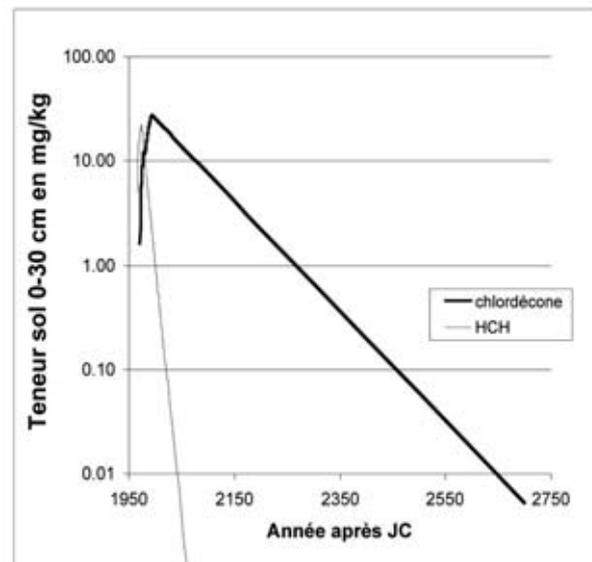


Figure 2 : Modélisation de l'évolution de la pollution d'un andosol sous bananeraie pérenne, après apport de 3kg/ha/an de chlordécone 1972-1978 et 1982-1993, et après apport de 12 kg/ha/an de HCH 1965-1975 ($K_{oc} = 1800 \text{ L kg}^{-1}$).

Ce modèle est trivial, dans la mesure où il est fondé sur le coefficient de partage entre le chlordécone sorbé sur la matière organique du sol et celui présent dans la solution du sol, et sur le stock de carbone organique dans les 30 premiers centimètres. Il ne comporte aucune hypothèse de biodégradation, sa validité confirme donc bien que le chlordécone n'est pas dégradé, et que seule une lente élution par les eaux de drainage pourra faire baisser les stocks sorbés. Il comporte par ailleurs deux singularités imposées par le fonctionnement hydrologique distribué des bananeraies, et par la diversité des systèmes de culture :

- la prise en compte de la redistribution de la pluie aboutissant à un drainage forcé au pied du bananier
- la prise en compte de la dilution couplée du carbone et du chlordécone par les labours parfois profonds.

On comprend ainsi mieux pourquoi la Guadeloupe a montré des teneurs supérieures à celles de la Martinique : elles sont relatives à des bananeraies pérennes, non travaillées, où l'essentiel du chlordécone est sorbé sur le premier décimètre ; au contraire, les bananeraies le plus souvent mécanisées de la Martinique ont connu une dilution de parfois plus de 2 par des labours profonds. Pour des apports identiques, les stocks totaux résiduels sont en réalité les mêmes, et la gravité de la contamination analogue. La dilution mécanique, qui plus est, interdit d'envisager une décontamination par décapage.

Cette dilution par des travaux du sol profonds pose un deuxième problème : elle peut expliquer une grande part de la variabilité spatiale des teneurs observées en Martinique (profondeurs irrégulières, érosion mécanique sèche), en même temps qu'elle rend peu pertinente une évaluation du degré de contamination des sols sur la simple base des teneurs gravimétriques sur 30 cm. A l'inverse, les différences de teneurs entre les hauts et les bas de bananeraies pérennes en forte pente sont minimales, indiquant une absence de transport solide ou de transfert par ruissellement. Un retour sur le raisonnement de la variabilité spatiale des teneurs est donc nécessaire, ainsi qu'une approche en termes de stocks.

Le modèle ne rend compte des teneurs observées dans les sols jeunes sur cendres et ponces et sur les sols brun-rouille à halloysite, que moyennant l'entrée de valeurs plus basses du K_{oc} , respectivement 6000-7500 et 2500-3500 L kg^{-1} . Coquet et Barriuso (2002) ont du reste noté des variabilités dans un rapport de 1 à 4 du K_{oc} d'un herbicide selon les types de sols

d'un bassin versant de Picardie. Des échantillonnages complémentaires sur des parcelles aux chroniques fiables seront faits pour confirmer cette tendance, qui indiquerait un différentiel de disponibilité des sites d'interactions hydrophobes des matières organiques des sols en fonction des matrices minérales : très disponibles dans des liaisons avec des oxyhydroxydes *sensu lato*, et partiellement passivés dans des liaisons avec des argiles.

Quant aux autres pesticides organochlorés analysés, HCH et dieldrine, il est rare que les teneurs enregistrées s'éloignent du seuil de détection. Leurs K_{oc} plus faibles que celui du chlordécone, et l'ancienneté de leur période d'apport, expliquent que leur devenir soit actuellement une préoccupation marginale. L'application du même modèle au HCH en andosols, avec un K_{oc} de 1800 L kg⁻¹ calé sur les données de Snegaroff (1977) et sur les maximums relevés en Martinique montre que le HCH devrait ne plus être détectable nulle part en 2040 (figure 2). Cette valeur de K_{oc} apparent, plus faible que celles mentionnées par la littérature, intègre la lente biodégradabilité du HCH. A l'inverse pour le chlordécone, aucune biodégradation n'est à attendre ; l'extrapolation du modèle d'éluion aux siècles futurs montre que le seuil de détection ne sera atteint qu'au cours du 26^e siècle pour les sols les plus contaminés.

PERSPECTIVES

Une deuxième sortie du modèle concerne les teneurs en chlordécone des eaux de drainage. L'exploitation plus intense des lysimètres désormais installés et validés sur andosols (Neufchâteau, Guadeloupe), sur sols jeunes sur cendres (Gradis, Martinique) et sur sols brun-rouille à halloysite (Rivière Lézarde, Martinique) devrait permettre de corroborer ces comportements différentiels. Les premières valeurs mesurées sur andosols sont proches des valeurs modélisées. Suffisamment en tout cas pour pouvoir affirmer que l'atteinte d'un seuil de «non pollution» des eaux de drainage à 0,1 µg L⁻¹ n'aura pas lieu avant le 24^e ou le 25^e siècle pour les sols les plus contaminés.

Si la question de la pollution des eaux peut être techniquement résolue par l'utilisation de filtres à charbon actif, il reste à proposer des solutions techniques face à la grave question des organes végétaux récoltés contaminés, notamment les légumes « racines ». Dans ce but, deux essais ont démarré en parallèle, un groupe en parcelles d'agriculteurs, et un autre en conditions contrôlées, destinés à répondre aux questions suivantes :

- y a-t-il une relation monotone croissante entre la contamination des sols et celle des tubercules/bulbes/rhizomes ?
- l'installation d'un environnement sain dans la zone de croissance des tubercules/bulbes/rhizomes évite t-elle la contamination, même si les racines puisent dans du sol contaminé ? Des solutions techniques praticables de travail du sol (sillons en créneaux, photo), permettant une gestion « bi-partie », sont testées ; elles ne seront valides que si l'hypothèse de contamination des tubercules par la seule diffusion du chlordécone au contact du sol est vérifiée.
- la plantation de contaminés dans un sol sain permet-elle d'obtenir *in fine* des tubercules/bulbes/rhizomes sains ?

Ces essais sont conduits, en collaboration avec les DAF-SPV, et avec les groupements de producteurs, dans un double souci de validité scientifique et d'opérationnalité, pour proposer au plus vite aux professionnels agricoles des systèmes de cultures innovants permettant de sortir du dispositif d'encadrement résultant du principe de précaution, qui met « à plat » les efforts structurés de diversification vivrière dans les deux Départements. Cependant, le cycle d'une plante comme l'igname étant de 8 à 10 mois, les résultats seront à peine disponibles à l'échéance du projet.

Aucune contamination des herbes, des cannes à sucre, ni des bananes n'a pour l'instant été constatée. Les contaminations maximales de « racines » ne montrent pas de tendance à la bio-accumulation, elles restent en deçà de celles que l'on obtiendrait en capturant le chlordécone du sol dans un volume correspondant à celui des tubercules, ce qui n'apporterait une bio-remédiation qu'en plusieurs siècles.



Photo A. Lafont, INRA-APC

PARTICIPANTS

- Claridge Clermont-Dauphin, Antoine Lafont (INRA Antilles-Guyane, Unité de Recherche Agropédoclimatique), Philippe Cattan (CIRAD-FLHOR Guadeloupe), Raphaël Achard, Audrey Caron, Christian Chabrier (PRAM/CIRAD FLHOR)

COMMUNICATION

Compte tenu de la crise environnementale que provoque la pollution des sols, des eaux et des « racines » par le chlordécone aux Antilles, les résultats sont communiqués en temps réel :

- aux groupes d'acteurs concernés par les conséquences des applications de produits phyto-sanitaires, GREPP en Guadeloupe, et GREPHY en Martinique, animés par les services extérieurs de l'Etat en coordination (DAF, DIREN, DSDS, DCCRF).
- à la mission interministérielle chargée de l'évaluation et du renforcement des actions engagées.
- à la mission d'information parlementaire chargée d'établir l'historique de la crise et d'évaluer les moyens déployés pour en sortir.

BIBLIOGRAPHIE

- Cabidoche Y.-M., Clermont-Dauphin C., Achard R., Caron A., Cattan P., Chabrier C., 2004. Stockage dans les sols à charges variables et dissipation dans les eaux de zoocides organochlorés autrefois appliqués en bananeraies aux Antilles : relation avec les systèmes de culture. INRA Antilles-Guyane, rapport intermédiaire de contrat avec le Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable, 52 p.
- Cattan P., Cabidoche Y.-M., Lacas J.-G., Voltz M. 2005. Occurrence of runoff on high infiltrability andosol under two banana cropping systems. Soil Tillage Research, sous presse.

- Clermont-Dauphin C., Cabidoche Y.-M., Meynard J.-M. 2004. Effects of intensive monocropping of bananas on properties of volcanic soils in the uplands of the French West Indies. *Soil Use and Management*, 20, 105-113.
- Coquet Y., Barriuso E., 2002. Spatial variability of pesticide adsorption within the topsoil of a small agricultural catchment. *Agronomie*, 22, 389-398.
- George S.E., Claxton L.D., 1988. Biotransformation of chlordecone by *Pseudomonas* species. *Xenobiotica*, 18, 407-416.
- Orndorff S.A. and Colwell R.R., 1980. Distribution and characterization of Kepone-resistant bacteria in the aquatic environment. *Applied and environmental Microbiology*, 39, 611-622.
- Kermarrec A. *et al*, 1980. Niveau actuel de contamination des chaînes biologiques en Guadeloupe : pesticides et métaux lourds. INRA Antilles-Guyane, rapport de contrat avec le Ministère de l'Écologie, 155 p.
- Sansoulet J., Cabidoche Y.M., Cattan P., Clermont Dauphin C., Desfontaines L., Malaval C. 2004. Solute transfert in an andisol of the French West Indies after application of KNO_3 : from the aggregate to the field experiment. "Volcanic Soil Ressources in Europe", COST Action 622 final meeting, June 4-8 2004, Reykjavik, Iceland (poster). *Rala Report*. 214: 111-112 (summary).
- Snegaroff J., 1977. Les résidus d'insecticides organochlorés dans les sols et les rivières de la région bananière de Guadeloupe. *Phytiatrie-Phytopharmacie*, 26, 251-268.



APR 2002

CARACTÉRISATION DU RISQUE DE CONTAMINATION DE LA NAPPE DE BEAUCE PAR LES PESTICIDES : ÉLUCIDATION DES MÉCANISMES DU TRANSPORT PRÉFÉRENTIEL ET APPROCHE SPATIALE DU RISQUE À L'ÉCHELLE DU BASSIN HYDROLOGIQUE

COORDONNATEUR SCIENTIFIQUE:

Yves COQUET

UMR INRA - INA - PG
Environnement et
Grandes Cultures

78850 Thiverval-Grignon

Tél. 01 30 81 54 04
coquet@grignon.inra.fr

OBJECTIF GÉNÉRAL

Le projet de recherches ESHEL vise à caractériser les mécanismes explicatifs des pollutions diffuses de la nappe de Beauce par les pesticides d'origine agricole. Cette caractérisation implique de **comprendre les mécanismes de dissipation des pesticides dans les sols de Beauce**, d'une part, et d'être en mesure de **représenter la variabilité spatiale de ces processus de dissipation en relation avec l'organisation spatiale des sols et des pratiques agricoles d'autre part**. D'un point de vue appliqué, le projet cherche à **prévoir spatialement le risque de contamination à l'échelle d'un bassin hydrologique, le bassin de Ouarville (2500 ha)**.

ORGANISATION DE LA RECHERCHE

Les recherches sont menées selon deux axes :

- l'étude détaillée des mécanismes de dissipation d'un pesticide-référence présent dans la nappe de Beauce, l'isoproturon.
- l'analyse de l'hétérogénéité spatiale de la couverture pédologique à deux échelles : échelle parcellaire (25 ha) et échelle du bassin hydrologique (2500 ha).

Pour chacun de ces deux axes, deux étapes se succèdent :

- l'acquisition de données sur la dissipation/l'organisation spatiale des sols
- la modélisation des processus de dissipation/de la répartition spatiale des sols.

Les résultats finalisés attendus sont un ensemble de recommandations pour la représentation spatiale de la dissipation des pesticides dans le sol aux deux échelles, parcelle et bassin hydrologique, adaptées au contexte de la Beauce.

ETUDE DES MÉCANISMES DE DISSIPATION DES PESTICIDES DANS LES SOLS DE BEAUCE

Les premiers résultats obtenus sur les mécanismes de dissipation des pesticides dans les sols de Beauce concernent d'une part la caractérisation du transport préférentiel des solutés dans les sols (partitionnement de l'eau du sol entre « eau mobile » et « eau immobile »), d'autre part la caractérisation du phénomène de dégradation de l'isoproturon dans le sol.

Etude du transport préférentiel du type « eau mobile » / « eau immobile » (MIM)

L'utilisation de traçages séquentiels de l'eau d'infiltration dans les trois principaux profils de sol de la parcelle montre l'existence d'une fraction d'eau « immobile » dans le sol, variable selon les horizons (Figure 1). Cette proportion d'eau immobile est plus importante dans l'horizon de surface (couche travaillée), où elle est aussi fortement variable localement (forte variabilité entre répétitions), et surtout dans le substrat calcaire, mais avec une variabilité à l'échelle locale beaucoup plus faible que celle de l'horizon de surface. Le coefficient d'échange entre la fraction d'eau mobile et la fraction d'eau immobile (paramètre alpha) est généralement très faible (Figure 1) et correspond à des temps caractéristiques d'échange de plus de 6 jours.

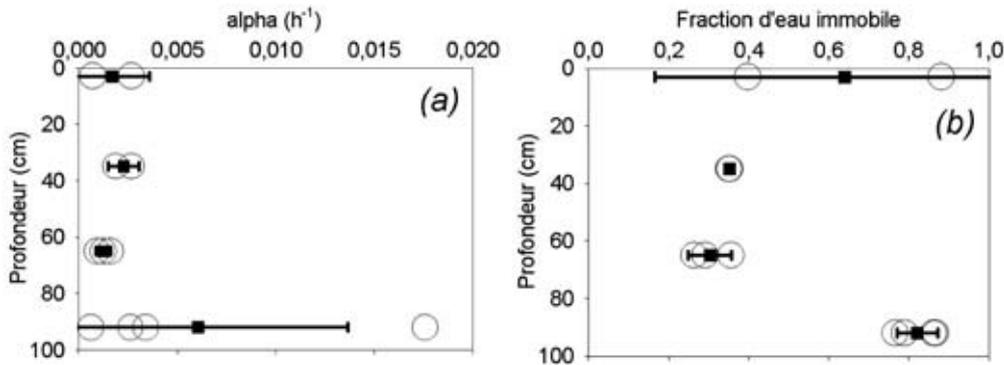


figure 1 - Coefficient d'échange (alpha) entre « eau mobile » et « eau immobile » (a), et fraction d'eau immobile (b), dans un des 3 profils de sol.

L'ensemble des valeurs obtenues montre que le transport préférentiel de type MIM peut potentiellement conduire à un déplacement rapide des solutés vers la profondeur. Ce type de transport n'est, à l'heure actuelle, pas décrit par les modèles de dissipation des pesticides couramment utilisés (PRZM, PEARL, etc.). Une des principales difficultés posées, du point de vue de la modélisation, est l'utilisation des paramètres MIM, obtenus en régime hydrique permanent, dans un modèle fonctionnant en régime transitoire.

La suite du travail sur ce thème portera sur la modélisation du transport de type MIM et sur la relation entre les paramètres MIM et les caractéristiques de l'espace poral des sols.

Etude de la dégradation de l'isoproturon

Le suivi au laboratoire de la dégradation de l'isoproturon dans les différents horizons de 3 profils de sol a montré une vitesse de dégradation très variable en fonction de la profondeur de l'horizon, sa teneur en eau, et sa température (Figure 2). En particulier, la durée de demi-vie de dégradation (DT_{50}) est toujours supérieure à 100 j dans les horizons de subsurface. Elle est d'environ 10 j dans l'horizon de surface, pour des conditions optimales d'activité de la microflore (20°C, 90 % de la Capacité de Rétention en eau, CR). En revanche, elle augmente d'un facteur 15 lorsque la teneur en eau du sol diminue à 50 % de la CR. Les résultats montrent l'importance de l'état hydrique du sol dans le déterminisme de la dégradation de l'isoproturon, et sa grande persistance dans les horizons du sous-sol.

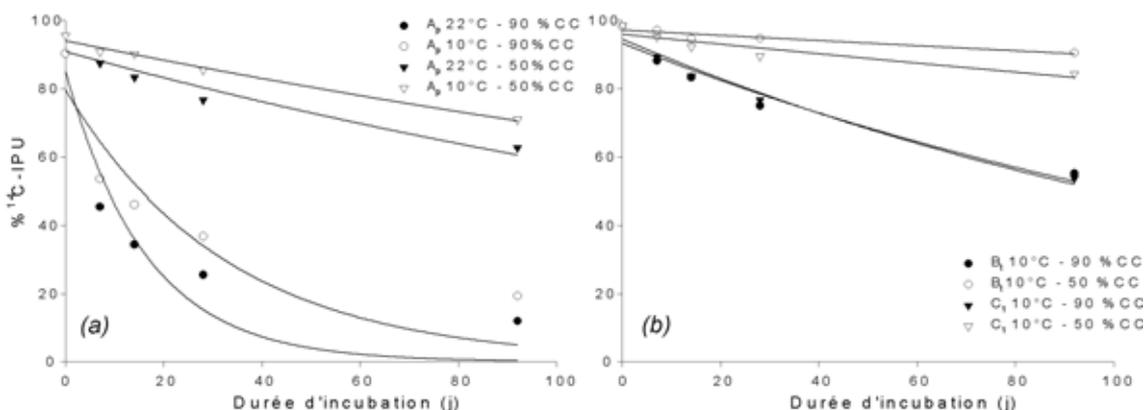


figure 2 - Cinétique de dégradation de l'isoproturon au laboratoire pour trois horizons d'un même profil de sol (horizon Ap de surface, horizons Bt et C₁ de sub-surface), en fonction de la teneur en eau et de la température du sol.

Au final, la conjonction d'un transport préférentiel dans l'horizon de surface et d'une persistance élevée dans le sous-sol peut entraîner un risque de contamination des eaux souterraines plus élevé qu'initialement prévu. Il reste toutefois à formaliser ces résultats dans un modèle de dissipation adapté, permettant de simuler l'ensemble du devenir de l'isoproturon dans les sols de Beauce.

Analyse de la variabilité spatiale des sols

La recherche sur l'analyse de la variabilité spatiale des sols a essentiellement concerné l'échelle parcellaire, pour l'instant. Les différents outils d'étude spatiale des sols (prospection pédologique, mesures géophysiques, télédétection) ont tous mis en évidence une très forte hétérogénéité spatiale de la couverture pédologique, à courte distance (métrique à décamétrique). Les mesures de résistivité électrique apparente révèlent toutefois une organisation à une échelle plus large, avec la présence d'argile à meulière, piégée sous le limon de Beauce, à l'Ouest de la parcelle, tandis que la partie centrale de la parcelle, fortement résistive, correspond à des sols superficiels (Figure 3).

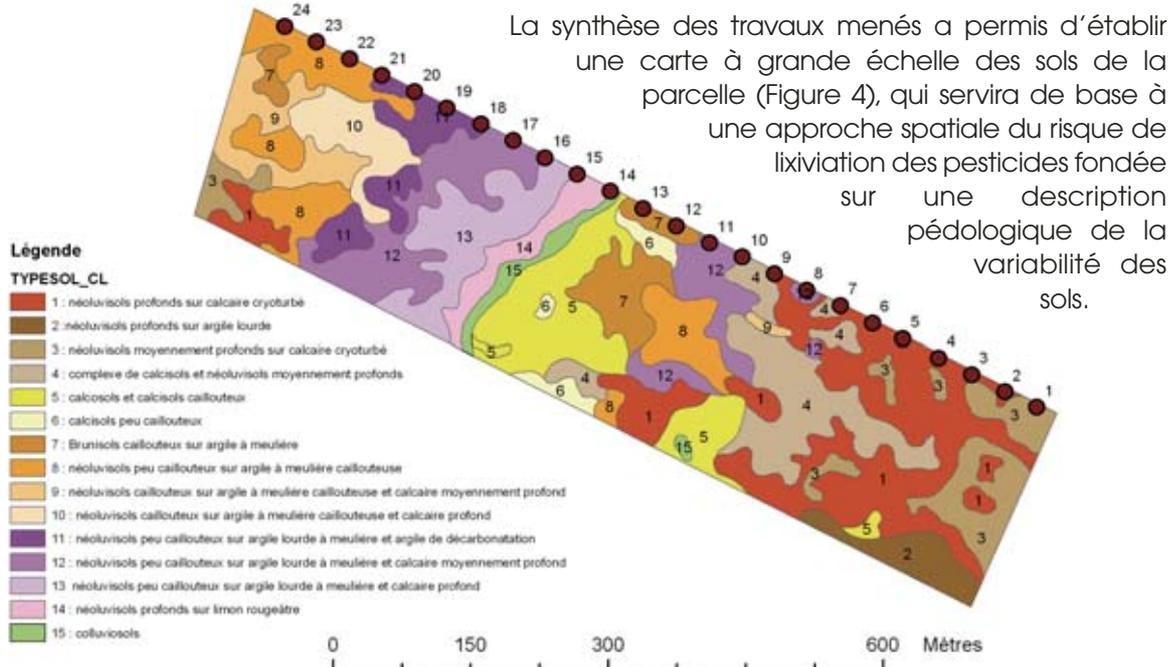
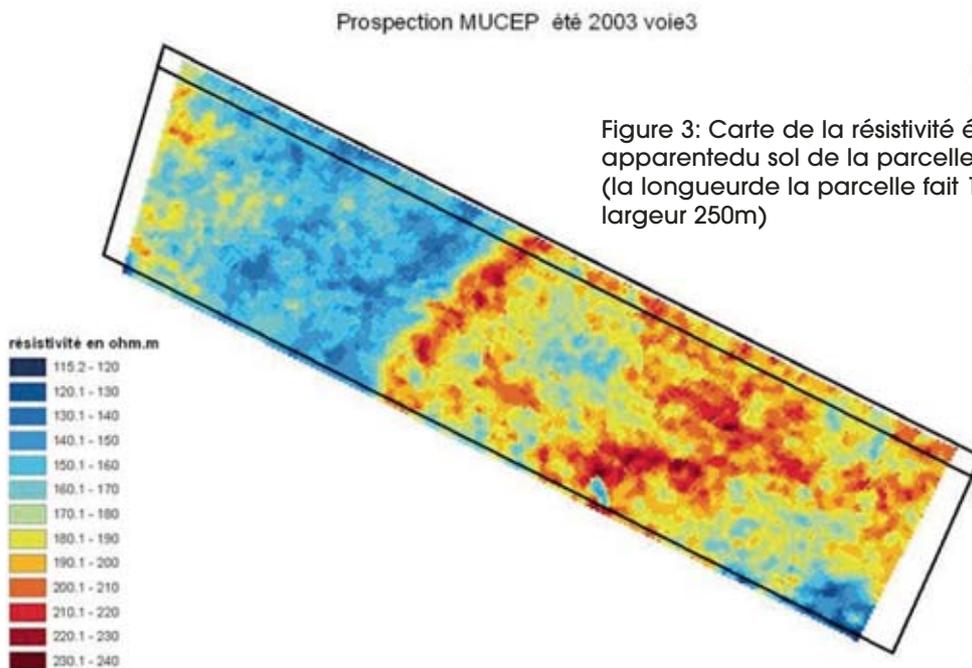


Figure 4. Carte de la variabilité intra-parcellaire des sols.

La suite du travail consistera à évaluer par modélisation l'impact de l'hétérogénéité intra-parcellaire des sols sur la dissipation et à étudier l'organisation des sols à l'échelle du bassin versant.

PUBLICATIONS ET VALORISATIONS

Articles à comité de lecture

- Coquet Y., Vachier P., Labat C. 2005. Vertical variation of near-saturated hydraulic conductivity in three soil profiles, *Geoderma*, sous presse.
- Alletto L., Coquet Y., Benoit P., Bergheaud V. 2005. Effects of temperature and water content on degradation of isoproturon in surface and subsurface soil. *Pest Management Science*, soumis.
- Coquet Y., Milliot G., Alletto L., Labat C., Vachier P. 2005. Variabilité spatiale de la fraction d'eau immobile dans les sols à l'échelle d'une parcelle cultivée, *Bulletin du GFHN*, à paraître.
- Moeys J., Nicoullaud B., Dorigny A., Coquet Y., Cousin I. 2005. Influence des propriétés intrinsèques du sol sur la mesure de résistivité électrique – Application en cartographie des sols, *Etude et Gestion des Sols*, soumis.

Communications

- Alletto L., Coquet Y., Vachier P., Labat C. 2005. Preferential flow in surface and subsurface soils in the recharge area of a groundwater aquifer, *Third International Conference on Water Resources Management 2005*, 11-13 April 2005, Algarve, Portugal (accepté).
- Coquet Y., Millot G., Alletto L., Labat C., Vachier P. 2004, Variabilité spatiale de la fraction d'eau immobile dans les sols à l'échelle d'une parcelle cultivée, *29èmes journées du Groupe Francophone d'Humidimétrie et des Transferts en Milieux Poreux GFHN*, Grenoble, 24-25 novembre 2004, p. 16.
- Alletto L., Coquet Y., Benoit P., Bergheaud V. 2004, Propriétés d'adsorption et de dégradation vis-à-vis de l'isoproturon des horizons de surface et de subsurface d'une parcelle agricole hétérogène de la Beauce, *Journées Nationales de l'Étude des Sols 2004*, Bordeaux, 26-28 octobre 2004, Actes des 8èmes journées, AFES, Bordeaux, pp. 63-64.
- Moeys J., Nicoullaud B., Dorigny A., Coquet Y., Cousin I. 2004, Cartographie des sols d'une parcelle de Beauce : Apports et limites de la résistivité électrique, *Journées Nationales de l'Étude des Sols 2004*, Bordeaux, 26-28 octobre 2004, Actes des 8èmes journées, AFES, Bordeaux, pp. 167-168.

Stages de formation à la recherche

- Alletto L. 2004. Dissipation des pesticides à l'échelle de la parcelle agricole. Etude des mécanismes d'adsorption, de dégradation et de transport de l'isoproturon sur une parcelle agricole hétérogène de la Beauce. DEA National de Science du Sol Univ. Nancy I, INAPG, ENSAR, ENSAM.
- Moeys J. 2004. Variabilité des sols et risques de contamination des aquifères : intérêts d'une prospection géophysique – résistivité et organisation spatiale des sols, DEA National de Science du Sol Univ. Nancy I, INAPG, ENSAR, ENSAM.
- Millot G. 2004. Caractérisation du transport préférentiel des pesticides dans les sols de Beauce. Etude de la variabilité spatiale de la teneur en eau immobile à l'échelle d'une parcelle cultivée, Stage d'option scientifique, Ecole Polytechnique, 30 p.



APR 2002

PESTICIDES DANS L'ATMOSPHÈRE : ÉTUDES DES CINÉTIQUES ET MÉCANISMES DE DÉGRADATION EN LABORATOIRE ET MESURES DANS L'ATMOSPHÈRE

COORDINATEUR SCIENTIFIQUE :

Abdelwahid MELLOUKI

Laboratoire de
Combustion et Systèmes
Réactifs - CNRS

1C, Avenue de la
Recherche Scientifique -
45071 ORLEANS Cedex 2

Tél : 02 38 25 76 12
Fax : 02 38 25 79 05
mellouki@cnsr-orleans.fr

CONTEXTE ET OBJECTIFS

L'utilisation des produits phytosanitaires entraîne leur présence dans l'air ambiant. Cependant, le comportement et le devenir de ces composés dans l'atmosphère restent encore méconnus. Le projet **PACT** (*Pesticides dans l'Atmosphère : étude des Cinétiques et mécanismes de dégradation en laboratoire et mesures dans l'atmosphère*) a pour objectif d'une part de construire une base de données décrivant le comportement atmosphérique (annuel et journalier) en atmosphères urbaines et rurales d'une trentaine de substances actives en région Centre et d'autre part d'étudier les processus de dégradation atmosphérique de certaines molécules.

Ce projet est porté par 3 partenaires dont les compétences sont complémentaires : le LCSR (Laboratoire de Combustion et Systèmes Réactifs - CNRS) d'Orléans, le laboratoire Micropolluants Technologies SA et le réseau de surveillance de la qualité de l'air en région Centre, Lig'Air. Les prélèvements et l'analyse sont assurés respectivement par Lig'Air et Micropolluants Technologies SA alors que les études de dégradation atmosphérique sont réalisées par le LCSR en utilisant la grande chambre européenne de simulation atmosphérique à irradiation naturelle.

Mots clés : pesticides, cinétique, analyse, prélèvement, dégradation, transport, photolyse, variation annuelle et journalière, base de données.

RÉSULTATS DE LA PREMIÈRE PHASE DU PROJET

Au cours de la première phase du projet, le Lig'Air et Micropolluants Technologies SA ont mené des études sur la variation saisonnière des concentrations en pesticides en région Centre dans un milieu périurbain à connotation rurale (Mareau-aux-Prés) et dans un milieu représentatif d'une zone urbaine (Orléans). Le LCSR a conduit des expériences sur la dégradation atmosphérique de la trifluraline et du dichlorvos.

Mesures de terrain

Les études de terrains réalisées par Lig'Air avec l'appui analytique de Micropolluant Technologie SA ont été menées en parallèle durant une année sur deux sites de typologie différentes. Le premier est un site urbain localisé dans la ville d'Orléans. Le second est un site périurbain à connotation rurale, localisé sur la commune de Mareau-aux-Prés. Les premiers résultats montrent que les pesticides sont présents aussi bien en atmosphère rurale qu'en atmosphère urbaine. Toutefois, les niveaux les plus importants sont enregistrés en milieu rural. La concentration moyenne annuelle (tout pesticides confondus) est environ 1,7 fois

supérieure en atmosphère rurale par rapport à l'atmosphère urbaine. D'autres différences comportementales ont aussi été observées entre ces deux atmosphères. En effet, certaines molécules telle que l'azoxystrobine (fongicide) ont été observées uniquement en milieu rural alors que d'autres molécules telles que le diuron (herbicide) ont été observées uniquement en atmosphère urbaine. Néanmoins, 44 % des pesticides recherchés ont été détectés parallèlement sur les deux sites.

Le lindane est la seule molécule qui présente une très faible variation hebdomadaire et saisonnière. Le lindane-g est une molécule interdite à l'utilisation depuis 1998. Ceci explique en partie l'absence de variation franche constatée sur son comportement. Les concentrations en lindane-g peuvent être assimilées à un niveau de fond de cette molécule (0,35 ng/m³ en moyenne) qui peut se régénérer, en fonction des conditions météorologiques, à partir d'un réservoir existant dans le sol.

Des variations hebdomadaires et saisonnières ont été observées sur la plupart des molécules détectées. Le printemps reste la saison la plus chargée en pesticides dans l'air ambiant a contrario de l'hiver qui reste la saison la plus dépourvue. A l'exception de la trifluraline qui a marqué son maximum en automne sur les deux sites, les autres molécules détectées lors de cette étude, ont marqué leurs maxima durant le printemps ou l'été.

Parmi l'ensemble des molécules détectées, la trifluraline est la molécule qui présente le taux de détection le plus élevé (69 %). Sa présence est pratiquement notée durant toute l'année sauf pendant la période estivale au cours de laquelle ses concentrations deviennent faibles voire indétectables. Le comportement des autres molécules traduit plus ou moins les pratiques agricoles et l'utilisation de ces produits sur et au voisinage des sites étudiés. Le comportement atypique de la trifluraline reste encore incompréhensible.

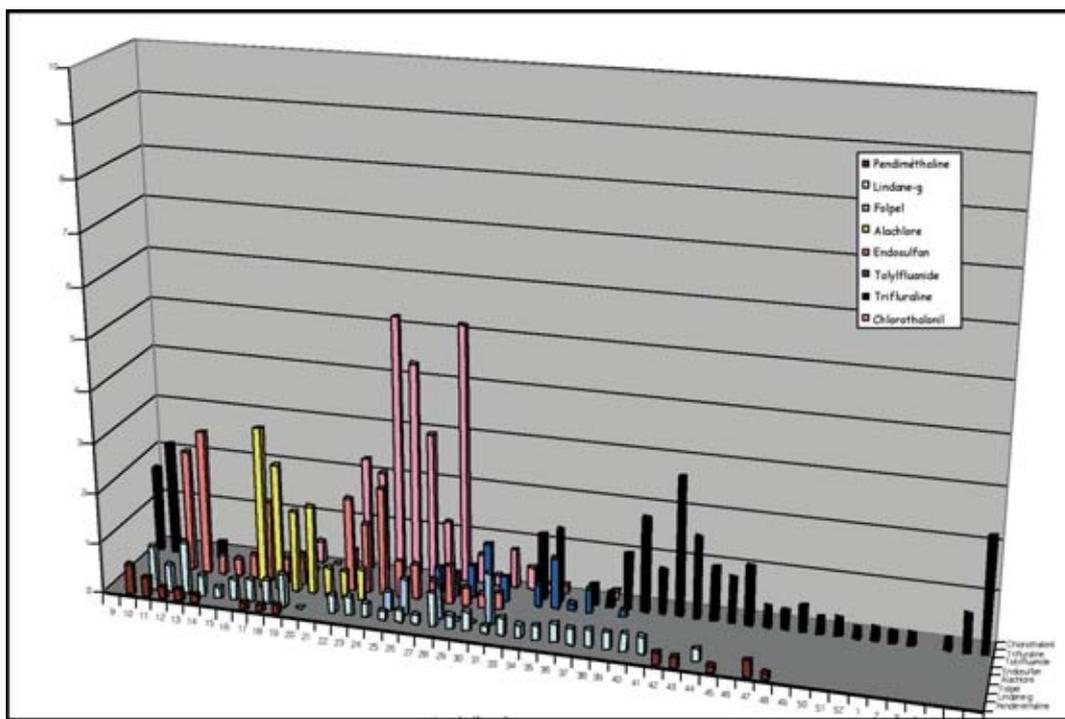


Figure 1 : Evolution hebdomadaire de certaines substances actives à Orléans

Dégradation atmosphérique

Les études menées sur la dégradation atmosphérique de la trifluraline dans des conditions proches du milieu atmosphérique réel (à EUPHORE) indiquent que cette molécule est photolysée très rapidement par rayonnement solaire avec une durée de vie de l'ordre de 15 minutes. La photolyse de la trifluraline conduit à la formation d'aérosols et à un autre produit qui n'a pas encore été identifié mais qui semble présenter la même structure que la trifluraline (Figure 2).

Les différentes voies possibles de dégradation du dichlorvos ont été examinées en collaboration avec une équipe du CGS de l'université de Starsbourg. Les résultats obtenus montrent que ce composé est dégradé par réaction avec OH en phase gazeuse et a une durée de vie de l'ordre de 6 heures. Le phosgène (COCl_2) a été identifié comme étant le principal produit de la dégradation du dichlorvos.

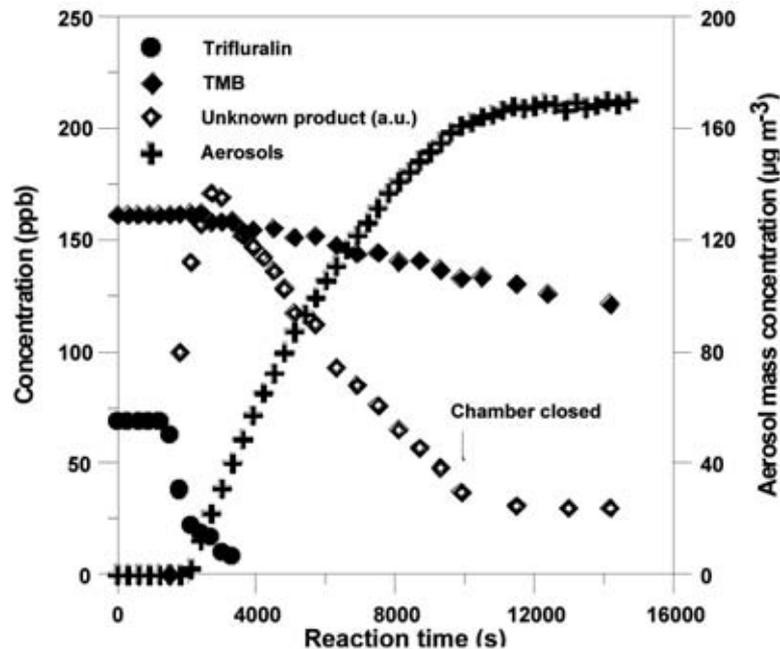


Figure 2 : Profils de concentration du TMB, du produit indéterminé et des aérosols en fonction du temps de réaction lors de la photolyse de la trifluraline.

PARTENAIRES

- Dr. Patrice COLIN, LIG' AIR, 135 Rue du Faubourg Banner, 45000 ORLEANS, Colin@Ligair.fr
- Dr. Paul-Eric LAFARGUE, Micro Polluants Technologie S.A., 5, Impasse des Anciens Hauts Fourneaux, ZI du Gassion, 57100 THIONVILLE, paul-eric.lafargue@wanadoo.fr

PUBLICATIONS ET VALORISATIONS

Publications

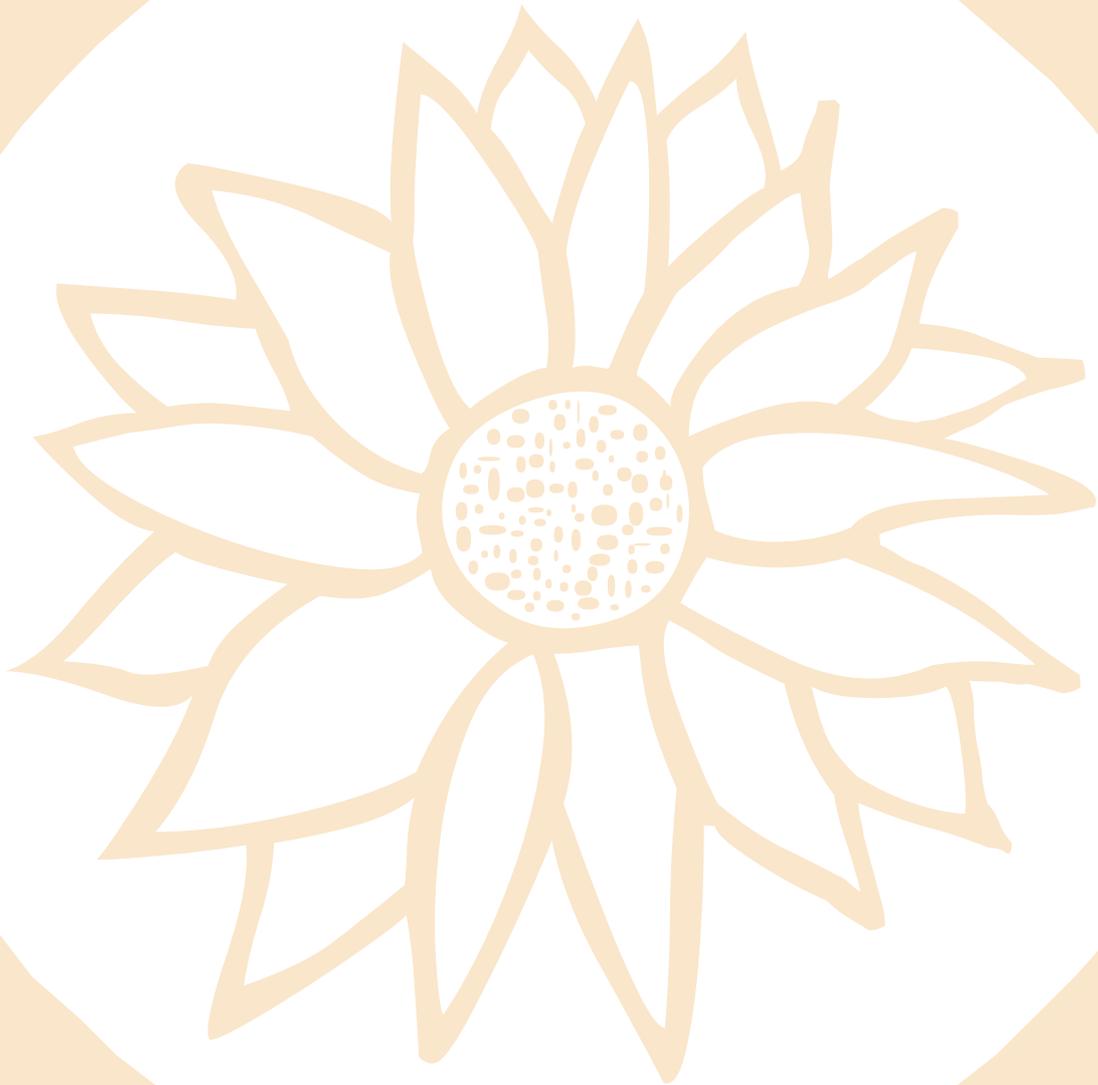
- Le Person A., Feigenbrugel V., Le Calvé S., Mellouki A., Wirtz K. Atmospheric Fate of Dichlorvos. Environmental Science & Technology (en préparation).
- Le Person A., Mellouki A., Wirtz K., Munos A. (2005). The photolysis and OH-initiated oxidation of Trifluralin under atmospheric conditions. Environmental Science & Technology (en préparation).

Communications

- Le Person A., Sogniac G., Mellouki A., Le Bras G., Wirtz K., Martin-Reviejo M. 2004. Aerosol formation from the reaction of OH with N,N-Diethylaniline. 1st French- German Summer school Ile d'Oleron France September 19th - October 1st 2004
- Le Person A., Feigenbrugel V., Le Calvé S., Mellouki A. (2005). Etude de la réactivité atmosphérique du dichlorvos en chambre de simulation. 35^e Congrès du Groupe Français des Pesticides, Marne la Vallée 18-20 Mai 2005.

Rapports d'études (Lig'Air)

- Les pesticides en milieu atmosphérique : Etude en région Centre 2000-2001, novembre 2001.
- Les pesticides en milieu atmosphérique : Etude en région Centre automne 2001, janvier 2002.
- Rapport d'étape : Etude de la contamination de l'air par les produits phytosanitaires, novembre 2002.
- Rapport d'étape : Etude de la contamination par les produits phytosanitaires en région Centre, décembre 2003.
- Contamination de l'air par les pesticides en zone pomicole, mars 2004.
- Contamination de l'air par les produits phytosanitaires en région Centre, année 2004, décembre 2004.







Session 2

EFFETS DES PESTICIDES À DIFFÉRENTS NIVEAUX D'ORGANISATION BIOLOGIQUE : DE L'INDIVIDU À L'ÉCOSYSTÈME

SYNTHÈSE DU VOLET 2 par James DEVILLERS, Jean-Louis RIVIERE et Thierry CAQUET

- Evaluation des effets chroniques des pesticides sur des systèmes biologiques intégrés

TRAVAUX DE RECHERCHE FINANCÉS SUITE À L'APR 1999

- Effets des pesticides sur les capacités d'adaptation et de reproduction des insectes - Marcel AMICHOT
- Modifications structurales et fonctionnelles de communautés d'organismes aquatiques exposés à un mélange d'herbicide et d'adjuvant en mésocosmes lenticques - Gérard LACROIX
- Validation d'un test de laboratoire pour l'évaluation et la prédiction de la toxicité sublétale de produits phytosanitaires sur l'abeille domestique - Axel DECOURTYE
- Méthodes de détection et d'évaluation des effets des pesticides sur les micro-organismes du sol - Guy SOULAS
- Réponses des micro-algues d'eaux douces aux pollutions par les pesticides - Christophe LÉBOULANGER

TRAVAUX DE RECHERCHE FINANCÉS SUITE À L'APR 2002

- Impact des pesticides sur l'environnement marin (IPEM) - Gaël DURAND
- Changements d'échelle et évaluation du risque écotoxicologique de mélanges entre substances actives herbicides et adjuvant CEREMEL - Laurent LAGADIC
- Action directe et indirecte des insecticides sur les bactéries endocellulaires altérant la sexualité des insectes - Mylène WEIL



SYNTHÈSE DU VOLET 2

ÉVALUATION DES EFFETS CHRONIQUES DES PESTICIDES SUR DES SYSTÈMES BIOLOGIQUES INTÉGRÉS

RÉDACTEURS :

James DEVILERS

CTIS
69140 Rillieux-la-Pape

tél. 04 78 08 49 84
J.devilliers@ctis.fr

Jean-Louis RIVIERE

riviere.j@numericable.fr

Thierry CAQUET

UMR 985 INRA -
Agrocampus Ecobiologie
et Qualité des
Hydrosystèmes
Continents
Equipe Ecotoxicologie et
Qualité des Milieux
Aquatiques

35042 Rennes Cedex

tél. 02 23 48 57 66
thierry.caquet@rennes.inra.fr

Pour ce volet, les objectifs des recherches privilégiés dans l'APR 1999 étaient l'identification de variables biologiques indicatrices des effets sublétaux des pesticides, l'analyse des effets en cascade à différents niveaux d'organisation biologique, l'étude des effets sur les communautés de micro-organismes et la caractérisation des conséquences de la présence des pesticides sur les interactions entre espèces et les processus écologiques. Une attention particulière devait être apportée à l'étude des effets des faibles doses et des interactions potentielles (synergie ou antagonisme) entre différents pesticides ou entre les pesticides et d'autres substances.

MOTS CLÉS

Faibles doses, évaluation des risques, organismes non cibles, effets sublétaux, cascade d'effets, biomarqueurs, bioindicateurs, fonctionnalité écologique, biosurveillance, modélisation.

ÉLÉMENTS DE CONTEXTE

Il peut paraître *a priori* étonnant de se préoccuper des effets des pesticides sur les organismes non cibles puisque ces substances ne sont utilisées en agriculture qu'après une évaluation de risque conduite dans le cadre réglementaire de la Directive régissant leur mise sur le marché (Directive 91/414/EEC). Le texte de cette Directive précise notamment que la mise sur le marché de ces produits est subordonnée à la démonstration préalable, conduite au niveau communautaire et au niveau de chaque État membre, que l'utilisation du produit dans le cadre agronomique n'entraînera aucun risque inacceptable pour l'homme et pour l'environnement.

L'évaluation réglementaire des risques écotoxicologiques des produits phytopharmaceutiques est en principe réalisée *a priori* (sauf pour les substances mises sur le marché avant la mise en place de la Directive), sur la base d'outils de prédiction de l'exposition et des impacts, et en se plaçant dans les conditions prévues d'utilisation des produits¹. L'évaluation du risque conduite dans le contexte réglementaire conclut à des risques acceptables, et non à une absence de risque.

L'évaluation réglementaire est complexe, très détaillée, tenant compte de l'ensemble des informations disponibles sur les produits. Elle peut être encore améliorée, notamment au niveau de l'exposition, comme l'a montré récemment l'exemple du Gaucho². Il serait certainement souhaitable – et cela semble scientifiquement possible – de moduler les autorisations données au niveau national pour mieux tenir compte des itinéraires techniques et des milieux à l'échelle locale. Cependant, l'évaluation réglementaire souffre de

¹ Aussi fréquemment désignées sous le terme de "bonnes pratiques agricoles"

limitations intrinsèques, la principale étant la nécessité d'autoriser un seul produit (une seule formulation commerciale) à la fois, pour des usages précis, mais à des concentrations maximales *par hectare*, sans tenir compte des *quantités totales* utilisées.

Les données existantes témoignent d'une contamination répandue et récurrente de l'environnement (milieux aquatiques notamment²) dans la plupart des régions françaises³, à des niveaux parfois supérieurs aux concentrations toxiques pour les organismes qui vivent dans les écosystèmes concernés. Ceci est clairement illustré par les résultats obtenus dans certains des programmes de recherche soutenus dans le cadre du Volet 1 du programme "Pesticides".

L'une des questions qui se pose alors est celle de la caractérisation des effets de cette contamination de l'environnement, qui relève d'une démarche de diagnostic (approche *a posteriori*). En effet, bien que les pesticides soient utilisés depuis plusieurs dizaines d'années et que de nombreux travaux de recherche leur aient été consacrés, il demeure difficile de mettre en évidence de façon formelle les relations de causalité entre l'utilisation de ces substances, l'exposition des organismes et l'apparition d'éventuels effets écotoxicologiques⁴. Les incertitudes à ce niveau concernent aussi bien la caractérisation de l'exposition des organismes que celle des effets toxiques et écotoxicologiques des substances concernées. De plus, les pesticides forment un groupe hétérogène : il s'agit de nombreuses substances actives (environ 400), commercialisées dans de très nombreuses préparations. Ces substances sont très différentes, tant dans leur comportement dans l'environnement que dans leur toxicité. Ce groupe est également très évolutif dans sa composition du fait des retraits d'autorisations ou des nouvelles autorisations, notamment en raison des évaluations obligatoires au niveau européen.

La complexité de l'évaluation de l'exposition des organismes dans les milieux naturels tient à la multiplicité des substances utilisées, au caractère fréquemment ponctuel (à la fois d'un point de vue spatial et d'un point de vue temporel) de la contamination et à des contraintes de nature analytique.

Il y a de multiples sources d'incertitudes dans la caractérisation des effets écotoxicologiques des pesticides dans les milieux naturels.

Une première limite tient à un manque de données écotoxicologiques du fait qu'un certain nombre de groupes taxonomiques (reptiles et amphibiens par exemple) ne font pas, dans le contexte réglementaire, l'objet d'une évaluation de risque dédiée, sans qu'il soit possible de savoir si les évaluations réalisées par ailleurs sur d'autres organismes leur sont extrapolables.

D'autre part, les quelques résultats fiables disponibles indiquent que tous les groupes taxonomiques sont susceptibles d'être affectés, et que les effets observés peuvent être aussi bien directs (mortalité immédiate ou différée des individus exposés) qu'indirects (modification des relations de compétition au sein d'un même niveau trophique et/ou des relations de consommation entre des niveaux trophiques successifs ; par exemple, risque de déclin de populations d'insectes et ensuite d'oiseaux suite à la destruction de zones végétalisées de bordure entraînant la disparition de l'habitat ou de la ressource alimentaire).

Il y a en outre de nombreux facteurs qui rendent la mise en évidence de relations de causalité entre présence des pesticides et effets écotoxicologiques difficile et plus particulièrement : l'altération physique et chimique des sols, l'eutrophisation des milieux aquatiques, la présence d'autres contaminants (éléments traces métalliques, produits organohalogénés, tels que dioxines, polychlorobiphényles ou anciens insecticides

2 Voir à ce propos les bilans annuels de contamination des eaux par les pesticides publiés par l'Institut Français de l'Environnement.

3 Si cette contamination est avérée pour les insecticides et les herbicides, les données sont en revanche beaucoup plus fragmentaires en ce qui concerne les fongicides.

4 Voir à ce propos les conclusions du Workshop Européen "Effect of Pesticides in the Field" (EPIF ; Le Croisic, Octobre 2003 ; Liess et al., 2005) et celles de l'Expertise Scientifique Collective INRA-Cemagref "Pesticides, agricultures et environnement : limiter les usages et réduire les impacts sur l'environnement".

organochlorés⁵, perturbateurs endocriniens, etc.), les modifications du régime hydrique (drainage, irrigation, etc.), la destruction des habitats ou l'altération de leur connectivité spatiale⁶, les changements globaux (climat, rayonnement UV), les introductions d'espèces, la surexploitation des écosystèmes, l'évolution des pratiques agricoles (travail simplifié du sol, semis direct, etc.), etc. Ces différents facteurs ne sont habituellement pas pris en compte dans l'évaluation de risque *a priori* mais les quelques données disponibles montrent qu'ils peuvent parfois interagir avec les effets des pesticides (dans le sens d'une exacerbation ou au contraire d'une atténuation de ces effets).

Enfin, la question de la pertinence des données disponibles pour des substances considérées individuellement (cas des données générées par l'évaluation de risque réglementaire⁷, voir ci-dessus) pour la prévision des risques pour les écosystèmes se pose. En effet, les milieux naturels sont presque toujours sujets à une multi-exposition, qui peut résulter non seulement d'un cumul d'apports distincts d'un point de vue spatial (apport par ruissellement ou drainage à l'exutoire d'un bassin versant par exemple) ou temporel (application de produits à quelques heures voire quelques jours d'intervalle par exemple), mais aussi parfois de même la pratique courante de l'application d'un mélange extemporané des produits dans la cuve de pulvérisation. Cette question était d'autant plus d'actualité au moment de la parution de l'APR que les adjuvants n'étaient alors pas régis par la Directive 91/414/EEC et qu'il existait très peu de données sur les effets des mélanges (ce qui est d'ailleurs toujours le cas). Cette préoccupation a d'ailleurs été reprise dans le rapport du Comité de la Prévention et de la Précaution rédigé suite à la saisine du Ministre chargé de l'Environnement (C.P.P., 2002). Depuis 2002, il est possible d'utiliser des mélanges extemporanés de produits phytopharmaceutiques (un produit pouvant comporter plusieurs substances actives), après une déclaration auprès du Ministère chargé de l'agriculture et sans évaluation préalable des risques pour la santé et pour l'environnement. Afin d'éviter l'usage de mélanges comportant des substances parmi les plus dangereuses s'ils n'ont pas fait l'objet d'une évaluation préalable des risques et une évaluation de leur intérêt agronomique, le Ministère chargé de l'agriculture est en train d'élaborer un arrêté relatif à l'utilisation de ces mélanges. Ce texte ne viserait que 5 % des 500 000 mélanges potentiels mais permettrait d'encadrer une pratique courante qui n'est pas prise en compte dans les procédures européennes actuelles d'autorisation de mise sur le marché.

Dans le cas d'une population donnée, les rares études conduites sur les effets des mélanges indiquent que dans la majorité des cas les effets observés correspondent à ceux de la substance la plus toxique ou à des effets additifs. Dans le cas des communautés, les informations sur l'impact prévisible en cas d'exposition à un mélange de substances très toxiques pour des organismes appartenant à des niveaux trophiques différents sont quasi-inexistantes. Force est de reconnaître que les bases scientifiques qui permettraient l'analyse et la prévision des effets des mélanges n'existent pas encore.

Dans ce contexte d'incertitudes multiples, il est apparu important lors de la rédaction de l'APR 1999 d'encourager les recherches sur des aspects intégrateurs de l'écotoxicologie, abordant les impacts des pesticides à l'échelle des écosystèmes et incluant l'analyse des modalités d'exposition aux différents niveaux des réseaux trophiques et l'analyse des réponses (directes et indirectes) des populations et des communautés.

Le principal objectif finalisé des travaux soutenus dans le cadre du Volet 2 du programme "Pesticides" était l'identification d'outils à l'usage des gestionnaires, qui

5 Par exemple le DDT ou la dieldrine, interdits depuis 1972.

6 Des aménagements des zones cultivées visant à augmenter la diversité culturale, à favoriser la circulation des organismes et à fournir des zones refuges permettent de limiter les impacts des pesticides mesurés sur les communautés, et ce pour tous les groupes d'organismes.

7 Seuls les produits phytopharmaceutiques contenant un mélange de plusieurs substances actives et les mélanges entre une substance active et ses produits de dégradation font l'objet d'essais d'écotoxicité.

permettent de mettre en évidence les effets des pesticides, que ce soit de manière prospective (*a priori*) avant que ces substances soient mises sur le marché, ou de manière rétrospective (*a posteriori*), une fois qu'elles ont été commercialisées et utilisées, dans le cadre d'une démarche de diagnostic environnemental (mesure de biomarqueurs ou de descripteurs structurels et/ou fonctionnels, identification de bioindicateurs, etc.).

LES APPORTS DES PROGRAMMES DE RECHERCHE

Les programmes de recherche soutenus dans le cadre de ce Volet 2 ont permis (Fig. 1) :

- d'acquérir des connaissances nouvelles sur l'écotoxicité des substances modèles étudiées,
- d'améliorer ou de développer certaines méthodes d'analyse chimique des pesticides ou d'évaluation de leur toxicité pour les organismes non cibles, susceptibles notamment d'être mises en œuvre dans le cadre des procédures d'évaluation du risque,
- de tester, parfois dans des conditions proches de l'opérationnalité, la réponse de divers outils de diagnostic environnemental.

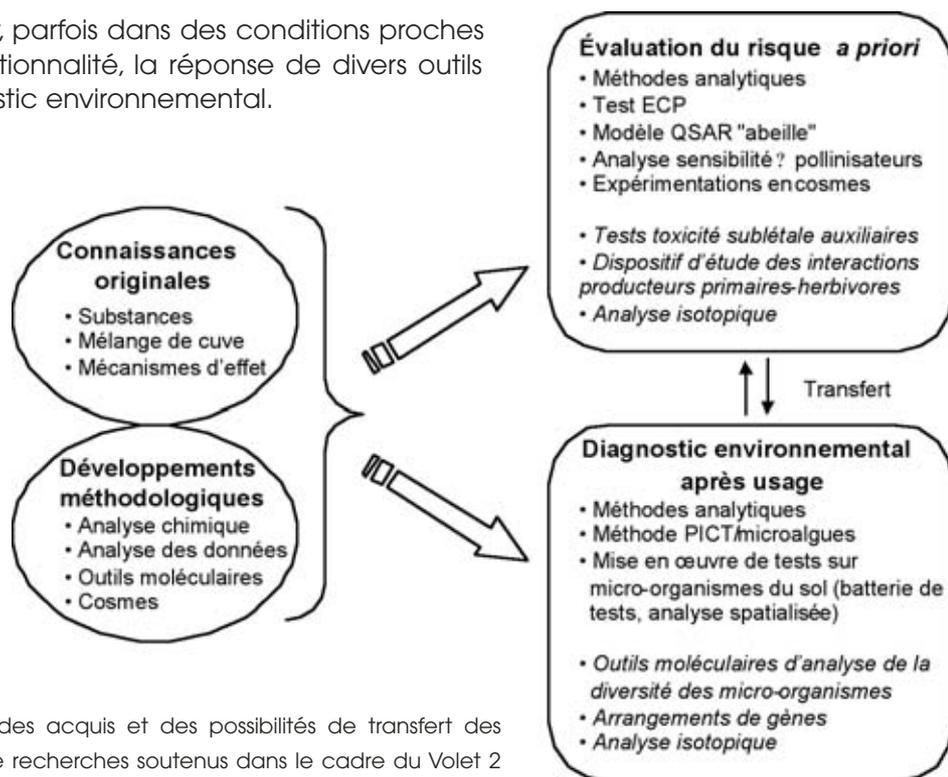


Figure 1. Bilan des acquis et des possibilités de transfert des programmes de recherches soutenus dans le cadre du Volet 2 de l'APR 1999 (les outils qui nécessitent des travaux complémentaires sont indiqués en italiques ; ECP : Extension Conditionnée du Proboscis ; PICT : *Pollution-Induced Community Tolerance* ; QSAR : *Quantitative Structure-Activity Relationship*).

Acquisition de connaissances nouvelles sur l'écotoxicité des substances modèles étudiées

Tous les programmes financés ont, à des degrés divers, contribué à accroître le corpus des connaissances originales sur les molécules étudiées. Il s'agissait de substances actives insecticides (chlorpyrifos éthyle, deltaméthrine, λ -cyhalothrine, τ -fluvalinate, cyperméthrine), herbicides (triazines, DNOC, 2,4-D, fomesafen, isoproturon), fongicides (azoxystrobine, prochloraze) et du cuivre. Des données ont aussi été obtenues pour des substances moins fréquemment étudiées comme les adjuvants de pulvérisation (Agral 90). Certaines de ces substances sont à présent interdites d'emploi en France et en Europe (atrazine, DNOC) ou en passe de l'être (fomesafen, adjuvants à base de dérivés polyéthoxylés du nonylphénol comme l'Agral 90) mais elles étaient toutes utilisées lors du démarrage des programmes.

L'originalité de l'un des programmes est d'avoir abordé la question des mélanges de substances au travers de la comparaison des effets d'un herbicide utilisé seul ou en

présence d'un adjuvant de pulvérisation et de combler ainsi, quoique de façon très fragmentaire, le manque de connaissances sur l'écotoxicologie des mélanges, notamment des mélanges extemporanés réalisés dans les cuves de pulvérisation immédiatement avant le traitement.

En ce qui concerne les effets écotoxicologiques des substances testées, les travaux réalisés ont mis en évidence :

- Le caractère multi-factoriel de l'origine des effets négatifs de doses sublétales d'insecticides sur la reproduction des insectes (expression de gènes impliqués dans la reproduction, reconnaissance des partenaires sexuels, identification des sites de ponte, niveau d'infestation par *Wolbachia*, etc.). Ces effets se traduisent, au moins chez les hyménoptères parasitoïdes exposés à des concentrations sublétales de chlorpyrifos-éthyle, par une modification de la sex-ratio et de la densité des populations. Ces animaux étant utilisés dans le cadre de stratégies de lutte intégrée qui combinent notamment des auxiliaires et l'utilisation d'insecticides, les observations réalisées au cours de ce programme soulignent l'intérêt primordial de la mesure des effets sublétaux de ces substances. Des travaux complémentaires sur les interactions directes et indirectes des insecticides avec la charge en *Wolbachia*, bactérie endocellulaire connue pour altérer le succès reproductif et modifier la sex-ratio de son hôte, se poursuivent dans le cadre d'un autre programme de recherche soutenu suite à l'APR 2002⁸.
- Les différences dans le devenir et les effets écotoxicologiques d'une substance active herbicide induites par la présence d'un adjuvant de pulvérisation. Les travaux réalisés en cosmes ont montré que l'adjuvant modifiait la répartition de l'herbicide dans le milieu et sa biodisponibilité, et qu'il était à l'origine d'effets écotoxicologiques propres. Des travaux complémentaires sur la thématique des effets des mélanges de substances actives herbicides et d'adjuvant de pulvérisation sont en cours dans le cadre d'un autre programme de recherche soutenu suite à l'APR 2002⁹.

Amélioration des procédures d'évaluation des risques

Le développement de méthodes d'analyse chimique ou de tests de toxicité des pesticides ne constitue pas un objectif prioritaire du programme "Pesticides", sauf si ces méthodes sont susceptibles de contribuer à l'amélioration des procédures d'évaluation des risques *a priori*. Au sein des programmes de recherche soutenus suite à l'APR 1999, plusieurs exemples de ce type sont à noter, avec des différences dans la perspective de transfert possibles à des utilisateurs.

- Transfert et/ou utilisation envisageables immédiatement
 - Des méthodes d'analyse chimique (CPG/MS¹⁰, CPG/DCE¹¹) permettant le dosage des pyréthriinoïdes dans des matrices complexes (abeilles vivantes ou mortes par exemple) ont été mises au point. Il est à présent possible de mieux caractériser le transfert de ces substances vers les insectes et de déterminer des concentrations effectives d'exposition. Ces méthodes sont aussi potentiellement applicables à la caractérisation de l'exposition d'autres organismes, notamment dans le contexte de la biosurveillance de la contamination de l'environnement.
 - Le Test d'Extension Conditionnée du Proboscis (ECP) sur abeille domestique,

8 Programme "Action directe et indirecte des insecticides sur les bactéries endocellulaires altérant la sexualité des insectes", coordonné par M. Weil.

9 Programme "Changement d'échelle et évaluation du risque écotoxicologie de mélanges entre substances actives herbicides et adjuvant (CEREMEL)", coordonné par L. Lagadic.

10 Chromatographie en Phase Gazeuse/Spectromètre de Masse.

11 Chromatographie en Phase Gazeuse/Détecteur à Capture d'Electrons.

qui existait déjà, a été amélioré au niveau du protocole et surtout de l'analyse des résultats. Cet essai pourrait apporter des informations sur les effets comportementaux des pesticides.

- Un modèle QSAR¹² pour la simulation de la toxicité aiguë de tous les pesticides (insecticides, mais également herbicides, fongicides, etc.) vis-à-vis de l'abeille a été mis au point. Ce modèle, unique dans son domaine, présente de nombreuses applications possibles : prédiction de la toxicité de nouveaux pesticides, compréhension des mécanismes d'action, aide au choix de concentrations pour la réalisation de tests de toxicité aiguë ou sublétales (test ECP par exemple), etc. La démarche adoptée est utilisable pour d'autres types de données (seules les données de toxicité aiguë ont été prises en compte actuellement), d'autres substances et d'autres organismes.
 - Parallèlement à l'approche QSAR, l'analyse statistique des données concernant les effets de substances actives et de formulations commerciales (comme précédemment insecticides, herbicides, fongicides, etc.) sur trois espèces d'hyménoptères pollinisateurs (*Apis mellifera*, *Megachile rotunda* et *Nomia melanderi*) a permis de montrer qu'il existait des différences entre espèces dans la sensibilité aux pesticides, *M. rotunda* étant plus sensible que l'abeille domestique. Ces résultats permettent d'alimenter la réflexion sur le concept d'espèce représentative en évaluation des risques (*A. mellifera* dans le cas des pollinisateurs) et sur la validité des facteurs de sécurité utilisés.
 - Les travaux réalisés en cosmes ont permis de capitaliser des connaissances sur la mise en œuvre de ces systèmes (constitution initiale ; conception et mise en œuvre de dispositifs adaptés pour la contamination, l'échantillonnage, etc. ; identification de points finaux de mesure intéressants ; utilisation de méthodes d'analyse statistique facilitant la visualisation de la réponse des communautés aux toxiques). Ils ont notamment confirmé la difficulté qu'il y avait à interpréter les résultats d'études réalisées dans des systèmes dans lesquels des poissons sont présents. L'expérience acquise par les équipes peut s'avérer intéressante pour les experts chargés de l'évaluation du risque qui doivent analyser les résultats d'expérimentations en cosmes qui figurent parfois dans les dossiers d'autorisation de mise sur le marché.
- Transfert et/ou utilisation envisageables à moyen ou long terme
 - L'utilisation de polymères à empreinte moléculaire (MIP) pour l'analyse des résidus d'azoxystrobine dans le sol n'a pas été couronnée de succès. De nouveaux développements réalisés dans d'autres laboratoires confirment toutefois le caractère prometteur de cette approche qui est potentiellement plus spécifique de la substance à doser que les méthodes traditionnelles d'extraction chimique.
 - Les travaux réalisés sur les effets des concentrations sublétales d'insecticides sur les insectes permettent d'entrevoir des possibilités de développement de nouveaux tests susceptibles d'être utilisés dans le cadre de l'évaluation de risque *a priori*. Toutefois, la question qui demeure est celle de l'intérêt de nouveaux tests dans ce contexte particulier. Une réflexion à ce sujet est nécessaire, les travaux ayant certes permis d'identifier de nouveaux points finaux intéressants pour la compréhension des effets des insecticides, mais pas nécessairement utiles ou pertinents pour l'évaluation du risque.
 - La mesure de l'enrichissement en isotopes stables du carbone ($\delta^{13}\text{C}$) et de l'azote ($\delta^{15}\text{N}$), qui est un outil très utilisé en écophysiologie et en écologie, a pour la première fois été mise en œuvre dans un contexte d'écotoxicologie expérimentale lors des études en cosmes aquatiques. Cette approche est basée sur l'hypothèse (largement vérifiée par ailleurs) que la teneur en ^{13}C et en ^{15}N d'un consommateur est déterminée par celle de sa nourriture, avec un enrichissement par rapport à celle-ci. L'analyse du niveau d'enrichissement en isotopes stables peut permettre d'identifier les ressources alimentaires utilisées par les organismes, de mettre en évidence une modification de la longueur des réseaux trophiques ou bien encore d'identifier des modifications de leur architecture générale, autant de conséquences possibles de la contamination par les pesticides. L'application à des insectes prédateurs présents dans des cosmes

aquatiques témoins et contaminés a montré que ce paramètre reflétait les altérations structurelles des réseaux trophiques induites par les traitements. L'approche isotopique pourrait donc éventuellement servir à diagnostiquer les effets des pesticides sur les réseaux trophiques. De nombreuses études complémentaires sont toutefois encore nécessaires avant de pouvoir conclure sur la pertinence de cet outil en écotoxicologie, et cette fois encore son intérêt dans le contexte précis de l'évaluation du risque doit être discuté.

- Un dispositif expérimental de laboratoire a été mis au point, qui permet le maintien à long terme et à l'équilibre de populations de microalgues et d'herbivores en interaction. Destiné avant tout à la réalisation d'études à caractère fondamental en écologie, ce dispositif pourrait aussi être utilisé pour des études écotoxicologiques, afin notamment de différencier entre les effets directs et indirects des substances sur les niveaux inférieurs des réseaux trophiques aquatiques. La complexité du dispositif et son coût font qu'il est difficile de lui prévoir une utilisation en routine. En revanche, il est tout à fait envisageable de mettre en œuvre ce type d'instrument dans le cadre de travaux à caractère cognitif.

Outils de diagnostic environnemental

Au cours des programmes de recherche soutenus dans le cadre du Volet 2 du programme, des avancées significatives ont été réalisées dans le domaine de la caractérisation de l'exposition et surtout dans celui de la mise en évidence des effets des pesticides. Parmi les méthodes mises en œuvre, certaines pourraient venir compléter la panoplie des outils existants, même si la plupart nécessitent encore des développements.

Les méthodes analytiques permettant la quantification de l'exposition des abeilles aux insecticides du groupe des pyréthrinoïdes peuvent être utilisées pour mesurer de façon précise la contamination des pollinisateurs, avant même que le seuil auquel se manifestent les effets de l'intoxication soit atteint. Elles permettent aussi l'analyse *post-mortem* des individus, essentielle lors de l'étude des cas de mortalités accidentelles.

Le programme de recherche sur la caractérisation des effets des pesticides sur les micro-organismes du sol a fait ressortir qu'aucun des tests existants n'était à lui seul suffisant et qu'il était indispensable de mettre en œuvre une batterie de tests de nature différente (dénombrement, caractérisation des profils métaboliques, empreintes moléculaires), tout en veillant à poursuivre l'amélioration des tests existants (étapes initiales de l'analyse moléculaire par exemple). Parallèlement, ce programme a montré l'intérêt de procéder à une analyse spatialisée des communautés de micro-organismes du sol plutôt que de travailler sur des pools d'échantillons. Ceci est très important dans la perspective de la définition du cahier des charges des études d'impact des pesticides sur les sols.

Le développement et l'amélioration d'outils moléculaires (arrangement de gènes de cytochromes P450 et de gènes "de stress") a permis de visualiser les effets de l'exposition à des concentrations sublétales en insecticides sur l'expression de gènes chez la drosophile. Ces outils, qui sont représentatifs des nouveaux biomarqueurs moléculaires en cours de développement depuis quelques années, nécessitent encore des études complémentaires et surtout des travaux de calibration et de validation en conditions naturelles avant que leur utilisation opérationnelle puisse être envisagée.

La mesure de l'enrichissement en isotopes stables du carbone et de l'azote de certaines espèces pourrait être utilisée pour caractériser la structure des réseaux trophiques et son évolution. Il est toutefois douteux que ce type de paramètre réponde de façon spécifique à la présence de pesticides.

Un programme dédié à l'étude des réponses de micro-algues d'eau douces aux pesticides a permis la mise en œuvre *in situ* d'un outil de bioindication active basé sur le concept PICT (*Pollution-Induced Community Tolerance*) déjà utilisé dans des écosystèmes expérimentaux (cosmes). Le principe de base de cet outil consiste à évaluer à l'aide d'un critère identique la sensibilité de communautés de même nature (mais échantillonnées dans des milieux ou à des dates différentes) à une substance active connue. Il est alors possible de mettre en

évidence une tolérance éventuellement plus importante pour certaines communautés, qui révélerait une exposition, présente ou passée, à cette substance (ou à une substance apparentée). Il s'agit d'un véritable outil d'évaluation écotoxicologique en ce sens qu'il intègre en théorie à la fois la biodiversité de l'ensemble de la communauté, les phénomènes d'adaptation physiologique des organismes, et les processus de sélection intra- et/ou interspécifique. Le couplage de cet outil avec l'utilisation de techniques de biologie moléculaire (empreintes génétiques telles que la DGGE¹³ appliquée aux ARN^r 18S par exemple) permet d'aider à l'interprétation des résultats en confrontant les données écotoxicologiques (effets sur les fonctions et la tolérance des communautés) et les diversités intra- et interspécifique des communautés de micro-algues. Appliquée à l'activité photosynthétique chez les microalgues, la démarche semble notamment pertinente dans le cas d'une pollution par des herbicides inhibiteurs du photosystème II (triazines, diuron, etc.). Son intérêt pour d'autres types de pesticides est toutefois encore à démontrer. A ce niveau, il est possible d'envisager d'utiliser d'autres critères d'effet que la photosynthèse (activité estérase par exemple) ou bien d'étudier d'autres communautés de micro-organismes que les micro-algues. L'une des limites de la méthode est le risque de co-tolérance, c'est à dire qu'une communauté peut présenter une tolérance accrue à une substance à laquelle elle n'a jamais été exposée (phénomène généralement observé pour des substances proches sur le plan de la structure chimique ou sur celui du mode d'action). Dans ce cas, il y a un risque de "faux positif". La méthode semble de fait plus pertinente pour détecter les sites soumis à un type de pression toxique (présence d'herbicides inhibiteurs du photosystème II par exemple) que pour identifier les substances impliquées. Il peut aussi être délicat de distinguer entre la co-tolérance et la multi-tolérance (augmentation de la tolérance à plusieurs substances présentes simultanément dans le milieu). Enfin, comme dans le cas de toutes les approches de diagnostic, la question du site de référence est délicate à gérer.

BILAN ET PERSPECTIVES

L'analyse du bilan des programmes de recherche soutenus dans le cadre du Volet 2 de l'APR 1999 suscite un certain nombre de remarques ou de commentaires.

Il y a tout d'abord une lacune persistante de connaissances en ce qui concerne les effets des pesticides dans les milieux marins et côtiers. Aucun projet portant spécifiquement sur ces milieux n'avait été retenu suite à l'APR 1999. En revanche suite à l'APR 2002 un programme de recherche sur les effets de divers pesticides sur le phytoplancton marin a été financé¹⁴.

Une autre lacune identifiée concerne les milieux tropicaux, qui présentent des caractéristiques environnementales spécifiques pour lesquelles les procédures actuelles d'évaluation du risque ne sont pas adaptées.

L'analyse de la liste des substances modèles retenues par les équipes fait apparaître que certaines d'entre-elles ne sont d'ores et déjà plus autorisées (triazines dont l'atrazine, DNOC) ou bien, parce que d'utilisation déjà limitée, elles ne seront pas soutenues par des notifiants au niveau européen (fomesafen). Plus généralement, l'application des réglementations a deux conséquences importantes sur la contamination par les pesticides :

- les molécules les plus problématiques, que ce soit en termes de persistance, de mobilité dans les sols ou d'écotoxicité, sont progressivement supprimées. Les objectifs de la recherche en écotoxicologie doivent en tenir compte.
- l'abandon de l'Autorisation de Mise sur le Marché (A.M.M.) d'une molécule ne signifie pas qu'un suivi ne soit pas nécessaire (dans le cas de l'atrazine par exemple, ne serait-il pas intéressant de vérifier la validité des modèles utilisés jusqu'alors et de mesurer la vitesse de disparition, en temps réel, de cette molécule ?).

Ce constat soulève le problème évoqué de façon récurrente lors des séminaires de programme de l'adéquation entre les besoins des gestionnaires (nécessité de disposer de données sur les molécules actuellement utilisées en vue d'argumenter une éventuelle prise

13 Denaturing Gradient Gel Electrophoresis.

14 Programme "Impact des pesticides sur l'environnement marin (IPEM)", coordonné par G. Durand.

de décision en terme de gestion du risque) et les contraintes des équipes de recherche (disponibilité de méthodologies analytiques validées et performantes, capitalisation de l'expérience acquise, exploitation de l'information disponible en propre ou dans la bibliographie, justification par rapport aux orientations du laboratoire ou de l'organisme de rattachement, etc.). Il n'est *a priori* pas facile de trouver une solution à ce problème. Il convient toutefois de signaler ici deux éléments qui devraient permettre d'améliorer les choses dans ce domaine :

- La possibilité au niveau du Conseil Scientifique d'interagir avec les équipes afin d'envisager des modifications sur le contenu des projets. Mise en œuvre notamment dans le cas du programme de recherche sur la toxicité sublétales des pesticides vis-à-vis de l'abeille, cette démarche a permis de réorienter avec succès le programme vers une famille de molécules (pyréthrinoïdes) plus adaptée au contexte actuel de la protection des cultures.
- L'incitation faite aux équipes d'envisager, dès la conception des projets de recherche, les possibilités de généralisation de leurs travaux, *via* par exemple l'étude de plusieurs substances différentes ou la mise en œuvre d'approches de modélisation. Les travaux réalisés sur les données de toxicité pour l'abeille et les autres pollinisateurs illustrent parfaitement ce type d'approche.

En dépit des efforts des équipes, il n'y a pas eu réellement d'étude sur l'existence d'une cascade éventuelle d'effets entre les différents niveaux d'organisation biologique. Les résultats obtenus sur les insectes exposés à des doses sublétales d'insecticides offrent de bonnes perspectives à ce niveau, car la panoplie des outils permettant de mesurer les effets depuis le niveau moléculaire jusqu'à celui des populations existe. Les travaux correspondants restent toutefois à réaliser.

La plupart des travaux a été réalisé par des équipes issues du monde de la recherche académique, ce qui peut expliquer le caractère principalement cognitif de certains programmes. Les programmes au sein desquels le transfert d'outils aux gestionnaires est envisageable à courte échéance, voire déjà en partie réalisé, sont avant tout ceux qui faisaient intervenir, soit dans la construction du consortium d'équipes, soit dans le montage financier du projet, des partenaires eux-mêmes impliqués dans l'appui au monde professionnel (ACTA par exemple) ou dans l'utilisation opérationnelle des outils (Agence de l'Eau Loire-Bretagne par exemple). Dans l'optique d'un programme de recherche finalisé comme le programme "Pesticides", l'association aux projets des utilisateurs des produits finaux de la recherche (Instituts Techniques par exemple), ou tout au moins de partenaires situés à l'interface entre le monde de la recherche et celui des utilisateurs est vraisemblablement à encourager, tout en veillant bien entendu à ce que l'excellence scientifique des projets soit conservée.

Parallèlement au bilan des connaissances nouvelles apportées par les différents programmes et à leurs développements et/ou transferts envisageables, il est aussi possible de faire un bilan concret de la valorisation des résultats sous la forme de productions scientifiques et de contribution à la formation. Actuellement, les 5 programmes de recherche concernés se sont traduits par 21 publications dans des revues à comité de lecture et chapitres d'ouvrage. Plus de 20 communications dans des colloques nationaux et internationaux ont aussi été réalisées. Ces chiffres témoignent d'un bon effort de valorisation. Les programmes soutenus ont aussi contribué à la formation de nombreux étudiants (BTS/DUT : 5, Maîtrise : 2, Formation continue/Diplôme d'Université : 2, Diplômes d'Ingénieurs/IUP : 4, DEA/DESS : 2, Thèse de doctorat : 5).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- C.PP (Comité de la Prévention et de la Précaution), 2002. *Risques sanitaires liés à l'utilisation des produits phytosanitaires*. 52 p.
- Liess M., Brown C., Dohmen P., Duquesne S., Hart A., Heimbach F., Kreuger J., Lagadic L., Reinert W., Maund S., Strelake M. & Tarazona J. (2005). *Effects of Pesticides in the Field*. EU & SETAC Europe Workshop, Octobre 2003, Le Croisic, France. SETAC Press.



APR 1999

EFFETS DES PESTICIDES SUR LES CAPACITÉS D'ADAPTATION ET DE REPRODUCTION DES INSECTES

COORDINATEUR SCIENTIFIQUE :

Marcel AMICHOT

UMR n°1112,
INRA - UNSA,
Sophia-Antipolis

Réponse des
Organismes aux Stress
Environnementaux

06903 Sophia Antipolis
Cedex

Tél. 04 92 38 64 40
marcel.amichot@antibes.inra.fr

Le projet a proposé principalement un approfondissement des connaissances concernant les effets des insecticides à doses sub-létales. Les travaux ont été focalisés principalement sur la reproduction et aussi sur les capacités d'adaptation à l'environnement, deux composantes majeures de la dynamique d'une espèce dans un environnement donné. Différentes approches ont été utilisées : comportementale, populationnelle, moléculaire et physiologique, avec comme ambition d'utiliser les technologies ou concepts les plus récents afin de donner un nouveau point de vue sur les effets non intentionnels des pesticides.

Le processus de reproduction a été abordé sous différents angles en allant de la reconnaissance du partenaire, à la fécondité pour terminer sur la dynamique des populations.

LE CHLORPYRIFOS

Nous avons pu montrer que le chlorpyrifos provoquait chez les mâles de *Trichogramma spp* une baisse de la reconnaissance des phéromones émises par les femelles (Figure 1 : exemple de *T. semblidis*). Au contraire, chez *Leptopilina heterotoma*, il provoque une hausse de la reconnaissance des kairomones (signaux de l'hôte captés par les parasitoïdes) (Figure 2). Cet insecticide induit une modification du sexe-ratio chez les insectes traités (*Trichogramma brassicae*) (Figure 3) ainsi qu'une diminution du nombre des pontes sans altérer le succès parasitaire (pour les parasitoïdes). Au niveau populationnel, cela se traduit par une diminution de la taille de populations traitées par cet insecticide (Figure 4). Ces effets ont tous été vus chez des hyménoptères. Chez *Drosophila melanogaster*, nous avons montré que le chlorpyrifos inhibait l'expression du gène YP1 codant pour la forme majeure de vitellogénine chez cet insecte. Cet effet corrobore totalement la diminution du nombre de pontes observé précédemment chez des hyménoptères. Enfin, chez des insectes résistants (*Culex pipiens*) aux insecticides organophosphorés dont fait partie le chlorpyrifos, nous observons une baisse de la fécondité (observation indirecte) ainsi qu'une augmentation de l'infestation par *Wolbachia* (Figure 5), bactérie présente dans le système reproducteur et connue pour altérer le succès reproductif et pour modifier le sexe-ratio de son hôte. Cette dernière remarque est à rapprocher de l'effet similaire directement induit par le chlorpyrifos observé chez les hyménoptères.

En l'état actuel des travaux, les effets de doses sub-létales de chlorpyrifos semblent concerner une grande variété d'insectes avec une convergence assez marquée sur la reproduction. Il est d'ailleurs intéressant de noter que ces effets convergents au niveau macroscopique ont des origines très différentes selon que l'on considère des souches résistantes ou sensibles aux insecticides.

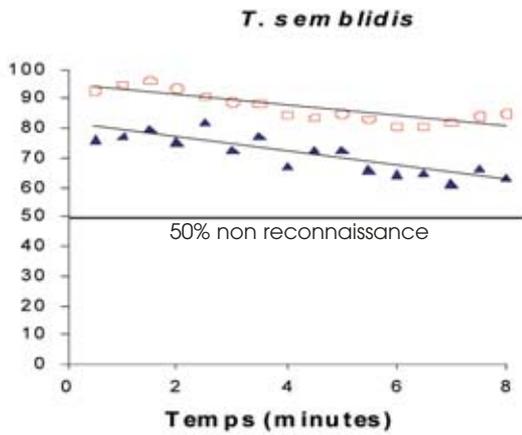


Figure 1 : Reconnaissance des phéromones

Pourcentages moyens, calculés toutes les 30 s, de temps passé par les mâles *T. semlidid* dans la zone marquée par les femelles de leur espèce. Traité : insectes ayant survécu à une DL20 de chlorpyriphos éthyle. Témoin (n = 24), Traité (n = 20). 50% représente une non reconnaissance, l'insecte passant autant de temps dans chacune des zones de phéromone. Triangles : témoins

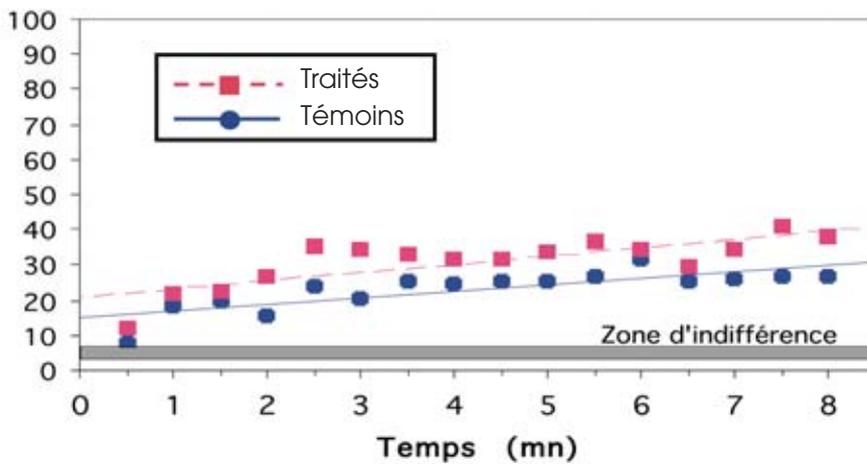


Figure 2 : Reconnaissance des kairomones.

Pourcentages moyens de temps passé par les femelles *L. heterotoma* sur la gélose kairomone. Traités : insectes ayant survécu à une DL20 de chlorpyriphos éthyle. Témoins (n = 54), Traités (n = 55). La zone d'indifférence correspond à une absence d'attraction de la gélose kairomone. Les tests de linéarité montrent que les points sont bien représentés par leur droites.

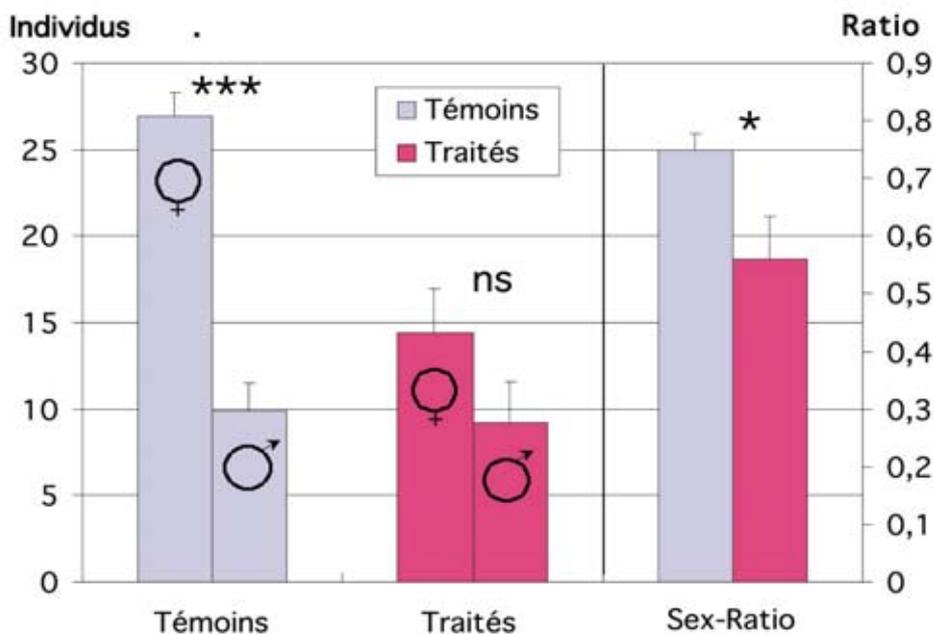


Figure 3 : Sexe-ratio de la descendance

(femelles et mâles) de femelles témoins et de femelles ayant survécu à une DL20 de chlorpyriphos éthyle (Traités). Sex-ratio : nombre de femelles divisé par le nombre total de descendants. ***: $p < 0,001$, *: $p < 0,05$, ns: $p > 0,05$. Barres d'erreur : erreur standard.

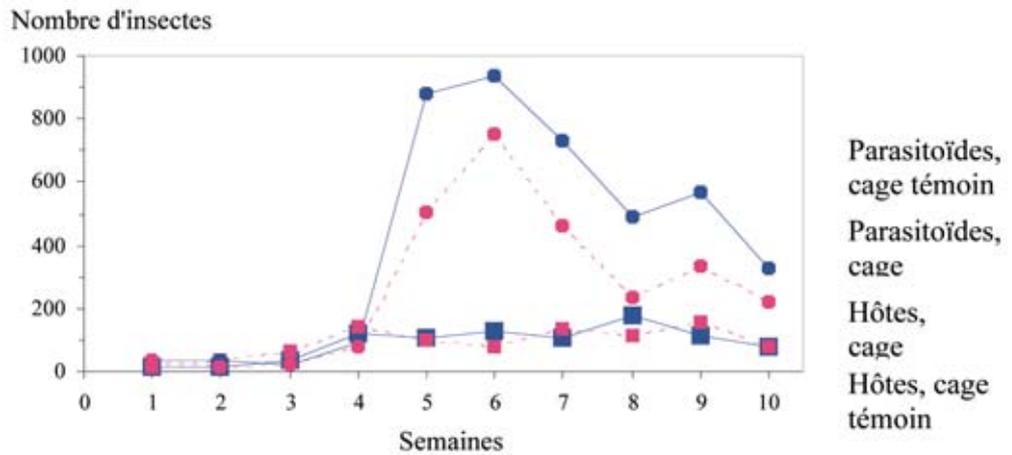


Figure 4 : Evolution des effectifs du parasitoïde et de son hôte dans une cage témoin (traits pleins) et dans une cage dont les insectes sont exposés à une DL 20 de chlorpyrifos éthyle (traits pointillés). Les valeurs obtenues pour les 4 premières semaines correspondent au démarrage des cages par insertion d'insectes. Parasitoïde : *Leptopilina heterotoma*; Hôte : *Drosophila melanogaster*.

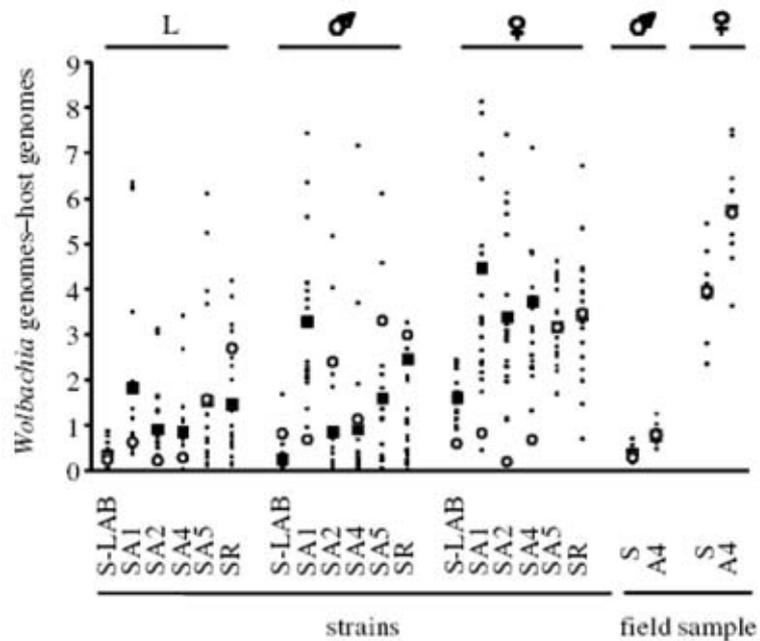


Figure 5 : Densité de l'infestation par Wolbachia

S-LAB et S : souches sensibles

L : larves

Point : moyenne d'un triplicat fait à partir d'un individu

Carré : moyenne des mesures

Cercle : médiane des mesures

LA DELTAMÉTHRINE

L'étude des effets de la deltaméthrine a été moins poussée. Nous avons retrouvé l'effet stimulant sur la détection des kairomones chez les hyménoptères. Par contre, nous avons observé chez la drosophile une perturbation de l'expression des peptides antibactériens dont les modalités varient selon leur voie de régulation (il existe deux voies de contrôle dans la réponse immunitaire chez la drosophile utilisant soit le gène *Toll* soit le gène *IMD*). La réponse immunitaire n'a pas été considérée dans cette étude au niveau physiologique mais elle mériterait de l'être à l'avenir. L'expression de gènes tels que alcool déshydrogénase, métallothionéine et superoxyde dismutase est également altérée, ce qui laisse penser que la réponse des insectes à des stress chimiques sera modifiée. L'impact de la deltaméthrine est fort sur l'expression de *dib* et *shade*, deux cytochromes P450 impliqués dans la synthèse de l'ecdysone et donc la reproduction.

L'analyse du polymorphisme d'un cytochrome P450 impliqué dans la dégradation des xénobiotiques chez la drosophile semble montrer que ce type de gènes est polymorphe même dans des souches n'ayant pas été au contact d'insecticides depuis longtemps (souches de laboratoire). Ainsi, s'il existe un lien entre polymorphisme de ce gène et exposition aux insecticides, ce lien n'est probablement pas direct.

EN RÉSUMÉ

Les travaux réalisés dans le cadre de ce projet ont montré que les insecticides peuvent avoir des effets subtils notamment en altérant la reconnaissance du partenaire pour la reproduction et l'identification du site de ponte. Ceci a pour conséquence directe une réduction de la taille des populations testées (expériences en laboratoire).

Des travaux complémentaires de ceux-ci vont dans le même sens car nous avons montré une altération de l'expression de gènes importants pour la reproduction. Dans des populations résistantes aux insecticides, nous avons trouvé une infestation plus importante par les bactéries *Wolbachia* qui sont notamment connues pour altérer la proportion mâles/femelles.

Ces travaux ont démontré une grande subtilité des effets des insecticides sur les capacités des insectes à se reproduire. Une évaluation complète de ces effets nécessite des travaux complémentaires associant la drosophile et des insectes ayant des spécificités intéressantes d'un point de vue agronomique ou environnemental (ex : abeille, puceron, trichogramme).

EN CONSÉQUENCE

A la lumière de ces travaux, il paraît logique de s'interroger sur le développement de nouveaux tests préalables à la mise sur le marché de nouveaux produits. Cependant, dans cette optique, nos travaux ne peuvent qu'être préliminaires car, par exemple, nous n'avons pas fait de mesures d'effet dose/réponse. Ce type de test peut être long à réaliser et la recherche d'indicateurs précoces paraîtrait alors souhaitable¹. Ceci est une prolongation du projet qu'il conviendrait de discuter.

Nous avons montré les effets d'insecticides sur la reproduction et *in fine* la dynamique de populations d'hyménoptères du type de ceux utilisés en lutte biologique. Ici encore, nos travaux peuvent être le point de départ pour des tests calqués sur les expérimentations réalisées afin de définir les insecticides ayant l'impact le plus faible sur la reproduction de ces insectes. Ceci est à envisager pour améliorer l'efficacité de la lutte intégrée qui, souvent, repose justement sur la reproduction des auxiliaires utilisés.

STAGIAIRES AYANT PARTICIPÉ AU PROGRAMME

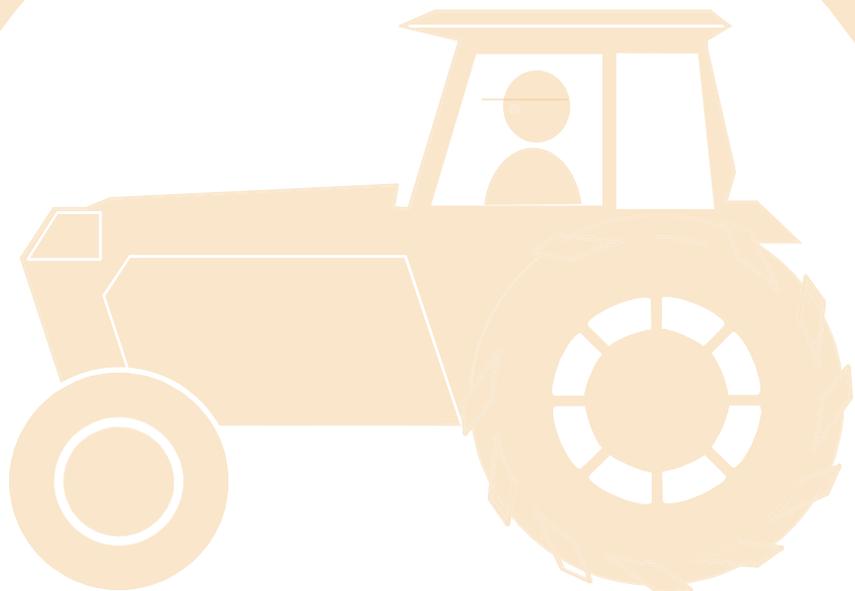
- Université de Lyon : Meyet J. (Maîtrise), Bardou C. (DEA), Dupont C. (Thèse).
- Université d'Antibes : Conrad C. (Thèse), Slosse R. (Ingénieur Agronome), Tiget L. (BTS), Tessier R. (BTS).

¹ Nous avons vu que la deltaméthrine et le chlorpyrifos modifient l'expression de gènes impliqués dans la synthèse de l'ecdysone. Une délétion ou un allèle nul de ces gènes bloque la synthèse de l'ecdysone et le développement ou la reproduction de la drosophile. Par contre, même si cela est intuitivement admis, nous avons pas d'études démontrant un rapport entre niveau d'expression de ces gènes et niveau de fertilité des insectes.

- Delpuech J.M.(Biométrie et Biologie Evolutive, CNRS UMR 5558, Bat. 741, Université Claude Bernard Lyon 1)
- Raymond M. (Equipe "Génétique de l'adaptation", Laboratoire Génétique et Environnement, Institut des Sciences de l'Evolution, Université de Montpellier II).

PUBLICATIONS

- Amichot M., Tarès S., et al., 2004. Point mutations associated with insecticide resistance in the *Drosophila cytochrome* P450 Cyp6a2 enable DDT metabolism. *European Journal of Biochemistry* 271, 1250-1257.
- Berticat C., Rousset F., et al. 2002. "High Wolbachia density in insecticide-resistant mosquitoes." *Proceedings of the Royal Society of London, Ser. B, Biological Sciences* 269, 1413-6.
- Bourguet D., Guillemaud T., et al. 2004 Fitness costs of insecticide resistance in natural breeding sites of the mosquito *Culex pipiens*. *Evolution* 58, 128-35.
- Brun-Barale A., Crochar D., et al., 2003 Polymorphism of P450 in *Drosophila melanogaster*. *Chemicke listy* 97: S129-S130.
- Conrad C., Tarès S., et al., 2001 "Utilisation de macroarrangements d'ADN pour évaluer les effets de doses sublétales de pesticides chez les insectes"., pp. 224-233 in *Produits phytosanitaires: analyse, résidus, métabolites, écotoxicologie, modes d'action, transfert...* édité par M. Couderchet, P.Eullaffroy and G.Vernet. Presses Universitaires de Reims, Reims.
- Delpuech J.M., Meyet J., 2003. "Reduction in the sex ratio of the progeny of a parasitoid wasp (*Trichogramma brassicae*) surviving the insecticide chlorpyrifos". *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 45, 203-208.
- Delpuech J.M., Bardon C., Bouletreau M., 2005. "Increase of the behavioral response to kairomones by the parasitoid wasp *Leptopilina heterotoma* surviving insecticides". *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, Soumis.
- Weill M., Fort P., et al. 2002 "A novel acetylcholinesterase gene in mosquitoes codes for the insecticide target and is non-homologous to the ace gene in *Drosophila*." *Proceedings of the Royal Society of London, Ser. B, Biological Sciences* 269, 2007-16.





APR 1999

MODIFICATIONS STRUCTURALES ET FONCTIONNELLES DE COMMUNAUTÉS D'ORGANISMES AQUATIQUES EXPOSÉES À UN MÉLANGE D'HERBICIDE ET D'ADJUVANT EN MÉSOCOSMES LENTIQUEES

COORDINATEUR SCIENTIFIQUE :

Gérard LACROIX

UMR CNRS 7625;
Laboratoire d'Écologie,
École Normale
Supérieure,

Tel : 01 44 32 38 82
Fax : 01 44 32 38 85
lacroix@biologie.ens.fr

OBJECTIFS

Les travaux réalisés avaient pour objectif de fournir des éléments de réponse aux questions suivantes :

- La présence d'un adjuvant de pulvérisation modifie-t-elle le devenir d'un pesticide dans les milieux aquatiques ?
- Un adjuvant de pulvérisation est-il susceptible d'exercer une toxicité propre ?
- Les effets écotoxicologiques d'un pesticide sont-ils modifiés en présence d'un adjuvant de pulvérisation ?
- Existe-t-il des descripteurs pertinents des effets des substances étudiées sur les communautés ?
- Peut-on mettre en évidence des relations de causalité entre exposition des individus et effets à des niveaux d'organisation plus élevés (populations et communautés) ?

INTRODUCTION

La problématique de l'évaluation du risque des mélanges a été reconnue comme d'intérêt prioritaire dans le rapport du Comité de Prévention et de Précaution sur les *Risques sanitaires liés à l'utilisation des produits phytosanitaires* publié en 2002 suite à la saisine du Ministre de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement. Plus largement, la question de l'évaluation du risque associé aux mélanges de substances est plus que jamais d'actualité, la contamination des milieux naturels étant généralement due à des cocktails de xénobiotiques. La question de recherche à la base de ce programme concernait le problème de l'évaluation du risque écotoxicologique des mélanges extemporanés de produits commerciaux utilisés pour la protection des cultures et d'adjuvants de pulvérisation, introduits dans les dispositifs de traitement (cuves) juste avant l'application. En effet, si les substances actives et les adjuvants de formulation font l'objet d'une évaluation de risque spécifique préalablement à leur mise sur le marché, il n'en est pas de même pour les mélanges de produits commerciaux préparés par les utilisateurs dans les conditions de la pratique agricole, alors que l'utilisation d'adjuvants de pulvérisation est très courante (agents mouillants, dispersants, etc.).

CHOIX MÉTHODOLOGIQUES

Afin d'aborder ces questions, un herbicide du groupe des diphényl-éthers, le fomesafen, a été choisi comme substance modèle car il est toujours utilisé en mélange avec un adjuvant de pulvérisation à base de nonylphénols polyéthoxylés, l'Agral 90.

Le programme reposait sur la combinaison d'études en mésocosmes, particulièrement appropriées pour étudier les effets des xénobiotiques au niveau

des communautés d'organismes aquatiques, avec des expérimentations de laboratoire sur la réponse de certaines espèces d'algues et d'invertébrés aux substances étudiées. L'objectif était notamment de faire la part des effets directs et indirects des deux substances. Les études de laboratoire ont été réalisées pour l'essentiel dans les locaux du Laboratoire d'Écologie de l'ENS de Paris.

Les expérimentations en mésocosmes ont été réalisées sur la plate-forme expérimentale de l'Unité Expérimentale Écologie et Écotoxicologie Aquatique (U3E) localisée sur le campus de l'École Nationale Supérieure d'Agronomie de Rennes (Agrocampus). Le dispositif expérimental comprenait 12 mésocosmes rectangulaires d'un volume utile de l'ordre de 18 m³. Le scénario de traitement retenu était celui correspondant à la contamination non-intentionnelle d'un écosystème lentique aux doses moyennes d'emploi au champ des deux substances (220 g/ha pour le fomesafen ; 496 g/ha pour l'Agral 90), en respectant le rapport des concentrations préconisé par le fabricant de l'herbicide. Les concentrations nominales correspondantes étaient de 40 µg/L pour le fomesafen et de 90 µg/L pour l'Agral 90.

Compte tenu de l'objectif de l'étude (évaluer les conséquences de la présence de l'adjuvant de pulvérisation sur le devenir et sur les effets de l'herbicide) et afin d'augmenter la probabilité de détecter statistiquement une différence entre les mésocosmes traités et les mésocosmes témoins, il a été choisi d'utiliser quatre réplicats pour chaque type de traitement et de ne pas tester la modalité "Agral 90" seule. Quatre mésocosmes ont été contaminés par l'herbicide seul, quatre autres ont été contaminés par le mélange fomesafen-Agral 90 et les quatre derniers ont servi de témoins. Cinq traitements ont été effectués entre le 18 avril et le 11 juillet 2000, à raison d'un traitement toutes les trois semaines.

PRINCIPAUX RÉSULTATS

Avancées méthodologiques

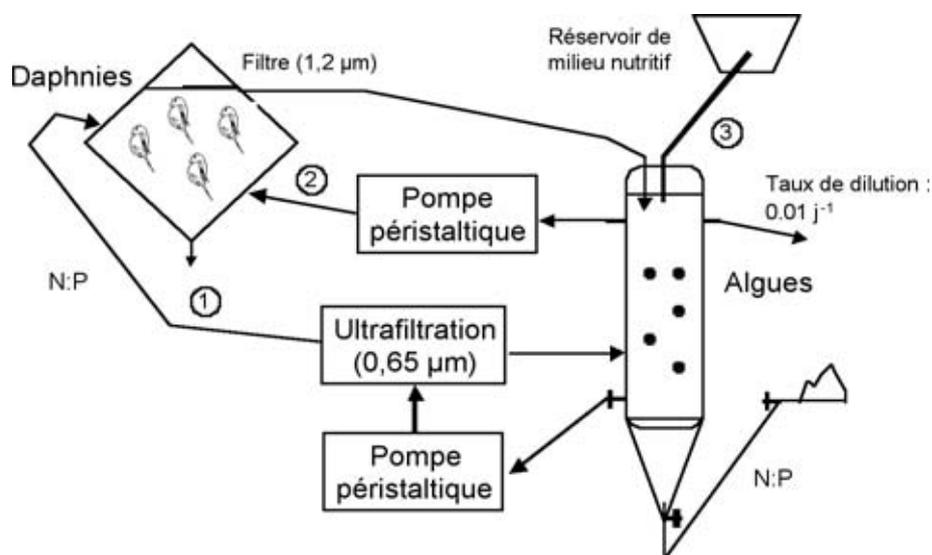


Figure 1. Schéma du dispositif expérimental "algues-herbivores" en circuit fermé développé au sein du laboratoire d'Écologie de l'ENS de Paris. j : Circulation des éléments dissous ; k : Contrôle du flux d'éléments particuliers ; l : possibilité d'ouverture du système et d'apport continu d'un toxique (taux de dilution contrôlé). Les paramètres du système (volume, débit, renouvellement) ont été choisis dans le but d'assurer une bonne homogénéisation du milieu sans provoquer un courant perturbant les daphnies.

D'un point de vue méthodologique, les actions de recherche menées dans le cadre de ce programme ont permis :

- de développer un nouveau dispositif expérimental de laboratoire permettant le maintien à long terme et à l'équilibre de microalgues et d'herbivores en interaction (Figure 1). Ce dispositif, développé au sein du laboratoire d'Écologie de l'ENS de Paris, permet le contrôle indépendant de la circulation des éléments dissous et du flux des

algues entre le compartiment algal et celui des herbivores, ce qui assure une coexistence stable des producteurs primaires et des herbivores. La variabilité intra-traitement de ces systèmes est très réduite et les états d'équilibre peuvent être atteints assez rapidement.

- d'évaluer pour la première fois en écotoxicologie expérimentale la pertinence d'un outil très employé en écologie, la mesure de l'enrichissement en isotopes stables du carbone ($\delta^{13}\text{C}$) et de l'azote ($\delta^{15}\text{N}$) chez des insectes prédateurs (notonectes). Cette approche est basée sur le fait que la teneur en ^{13}C et en ^{15}N d'un consommateur est déterminée par celle de sa nourriture, avec un enrichissement par rapport à celle-ci dû à une élimination préférentielle des formes légères de ces deux atomes au cours des réactions biochimiques impliquées dans les phénomènes d'excrétion. L'analyse du niveau d'enrichissement en isotopes stables peut permettre d'identifier les ressources alimentaires utilisées par les organismes (phytoplancton, macrophytes ou matière organique morte pour les invertébrés, apports alimentaires exogènes pour les invertébrés ou les poissons, etc.), de mettre en évidence une modification de la longueur des réseaux trophiques (un raccourcissement des réseaux se traduit par une diminution de l'enrichissement isotopique des consommateurs situés au sommet des réseaux, notamment pour l'azote) ou bien encore d'identifier des modifications de l'architecture générale de ces derniers (passage d'un réseau basé sur la production primaire phytoplanctonique à un réseau plus ou moins complètement basé sur l'utilisation de la matière organique en décomposition).

L'hypothèse retenue pour ce travail était que la mesure de l'enrichissement en isotopes stables du carbone et de l'azote pourrait être employée comme révélateur d'éventuelles modifications de la structure des réseaux trophiques en réponse à la présence de xénobiotiques, notamment si les mesures sont réalisées sur les organismes situés au niveau le plus élevé de ces réseaux.

- de confirmer la validité des choix méthodologiques effectués pour la mise en place et le suivi de mésocosmes :
 - Constitution initiale permettant un suivi de plusieurs mois des différents compartiments biotiques, sans intervention extérieure (ajout de nutriments, d'organismes, ...).
 - Mise en œuvre d'un dispositif adapté pour la contamination des systèmes.
 - Utilisation de dispositifs d'échantillonnage ou de contention qui permettent le suivi de la dynamique des toxiques dans les principaux compartiments des systèmes (eau, sédiments, macrophytes), ainsi que l'étude de la réponse des différents organismes d'intérêt.
 - Utilisation de la courbe de réponse principale (*Principal Response Curve* ou PRC), méthode d'analyse statistique qui permet de représenter de façon synthétique la réponse des communautés aux toxiques, et notamment de caractériser la dynamique de la restauration suite à l'arrêt de la contamination.

Par ailleurs, ces travaux ont mis en évidence les difficultés associées à la présence de poissons (gambusies) dans ce type de système. Ces animaux ont exercé une pression de prédation significative sur les autres compartiments des mésocosmes, notamment sur le zooplancton. Aucune des méthodes d'échantillonnage des poissons qui ont été testées ne s'est avérée efficace, ce qui n'a pas permis de caractériser les effets des traitements sur ce compartiment. Dans ces conditions, l'introduction de poissons en liberté dans les mésocosmes apparaît donc comme non souhaitable.

DONNÉES ÉCOTOXICOLOGIQUES

Les données obtenues apportent des informations originales sur les deux substances étudiées, qui pourraient être utiles aux structures chargées de l'évaluation des dossiers d'autorisation de mise sur le marché des pesticides. L'existence d'une redondance fonctionnelle au sein du phytoplancton, l'absence d'effet en cascade sur le zooplancton et la restauration rapide de la structure du phytoplancton après l'arrêt des traitements conduisent à considérer que le fomesafen présente un risque modéré pour le compartiment planctonique dans des conditions d'emploi proches de la pratique agricole.

RÉPONSES AUX QUESTIONS POSÉES

Ce programme de recherche a permis d'apporter des réponses concrètes à la plupart des questions posées :

- *La présence d'un adjuvant de pulvérisation modifie-t-elle le devenir d'un pesticide dans les milieux aquatiques ?*

La présence d'Agral 90 a modifié profondément le devenir de l'herbicide dans les mésocosmes, sans doute en favorisant sa localisation au niveau des interfaces (eau-atmosphère, eau-paroi des mésocosmes, etc.), entraînant de ce fait une diminution de sa concentration dans l'eau. La modification du devenir du fomesafen liée à la présence de l'Agral 90 a atténué sensiblement les effets de l'herbicide sur les lymnées, *via* une diminution de sa biodisponibilité.

- *Un adjuvant de pulvérisation est-il susceptible d'exercer une toxicité propre ?*

Au laboratoire, aucune toxicité de l'Agral 90 n'a été observée pour les algues. Cette substance aurait même probablement un effet favorable sur la croissance des espèces mixotrophes (*Cryptomonas* sp.).

L'Agral 90 exercerait une toxicité vis-à-vis de certains Crustacés du zooplancton. Au laboratoire, des effets significatifs sur la mobilité de *Daphnia magna* ont été observés. En mésocosmes, l'adjuvant a exercé une toxicité pour certaines espèces du zooplancton (Calanides), avec des effets en cascade sur la structure de ce compartiment. Ces effets sur le zooplancton se sont cumulés avec ceux du fomesafen sur le phytoplancton, conduisant à une modification importante de la structure des communautés planctoniques dans les mésocosmes contaminés par le mélange.

- *Les effets écotoxicologiques d'un pesticide sont-ils modifiés en présence d'un adjuvant de pulvérisation ?*

En présence de fomesafen, la croissance des algues vertes a été légèrement inhibée (effet direct), alors que d'autres groupes algaux, moins sensibles à l'herbicide, montraient une tendance à une augmentation d'abondance (effet indirect lié à l'inhibition de la croissance des Chlorophycées). Cet effet a cessé dès l'arrêt de la contamination des mésocosmes. Différents descripteurs (concentration en chlorophylle *a*, indice de dominance de Simpson, indice de taille de Havens) ne se sont pas avérés sensibles au traitement par le fomesafen, sans doute parce que les espèces inhibées ont été remplacées par des espèces appartenant à d'autres groupes mais de taille (biomasse) équivalente (phénomène de redondance fonctionnelle). Ce remplacement, associé à l'absence de toxicité du fomesafen pour les arthropodes (vérifiée au laboratoire pour *D. magna*), expliquerait qu'aucun effet n'ait été observé sur le zooplancton. Chez les lymnées, l'herbicide a induit une altération des performances reproductives. Aucun effet sur les autres macro-invertébrés n'a été mis en évidence.

En présence d'Agral 90, une réduction de l'abondance des crustacés calanides a été observée, accompagnée de l'augmentation de l'abondance d'autres groupes (rotifères, crustacés cyclopidés). Cet effet serait essentiellement dû aux propriétés toxicologiques propres de l'adjuvant, mais ce point mériterait confirmation en étudiant les effets de l'Agral 90 seul. En ce qui concerne les gastéropodes, aucun effet sur la reproduction n'a été observé en présence d'Agral 90, sans doute du fait de la plus faible biodisponibilité de l'herbicide en présence d'adjuvant.

Il est à noter qu'aucune interaction entre l'Agral 90 et le fomesafen n'a été observée lors des tests de toxicité réalisés en laboratoire sur la croissance de l'algue *Scenedesmus obliquus* ou sur l'immobilisation de *D. magna*.

- *Existe-t-il des descripteurs pertinents des effets des substances étudiées sur les communautés ?*

Le dénombrement des groupes taxonomiques présents dans les communautés permet la mise en évidence d'effets qui ne sont pas détectables par des mesures plus globales (concentration en chlorophylle *a* pour le phytoplancton par exemple). Il n'a pas été nécessaire d'utiliser le niveau taxonomique le plus précis (espèce) pour mettre en évidence ces effets.

A la concentration nominale de fomesafen utilisée pour l'expérimentation en mésocosmes, l'herbicide a eu en laboratoire un effet négatif sur la taille des coenobes (colonies) de *S. obliquus* qui est susceptible d'avoir des conséquences sur la vulnérabilité de cette espèce vis-à-vis du broutage par le zooplancton. Ces effets sublétaux des herbicides mériteraient d'être étudiés plus en détail car ils pourraient avoir des conséquences importantes sur le fonctionnement des réseaux trophiques planctoniques.

L'analyse de l'enrichissement en isotopes stables du carbone et de l'azote chez les prédateurs semble pouvoir apporter des éléments de connaissance sur le fonctionnement des réseaux trophiques et sur leurs réponses aux xénobiotiques. Des modifications de la signature isotopique (et donc vraisemblablement de régime alimentaire) des larves de notonectes ont été mises en évidence entre mésocosmes témoins et traités (Figure 2).

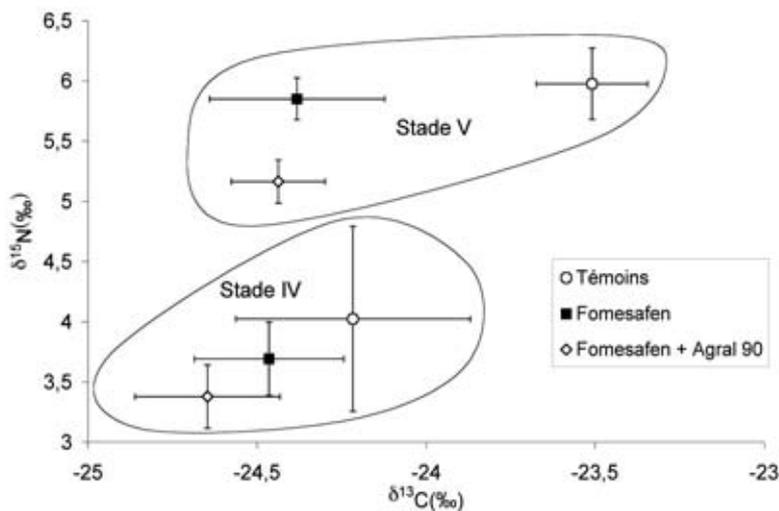


Figure 2. Valeurs moyennes (\pm erreur standard) de l'enrichissement en isotopes stables du carbone ($\delta^{13}\text{C}$) et de l'azote ($\delta^{15}\text{N}$) pour les différents stades larvaires de Notonectidae prélevés dans les mésocosmes témoins, contaminés par le fomesafen seul et par le mélange fomesafen + Agral[®] 90.

La contamination par le mélange a entraîné une diminution de la valeur de $\delta^{15}\text{N}$ et de $\delta^{13}\text{C}$ par rapport aux témoins. La contamination par l'herbicide seul a uniquement causé une diminution de la valeur de $\delta^{13}\text{C}$ par rapport aux témoins. Cette étude, qui constitue une première en écotoxicologie expérimentale, a permis de montrer que la mesure de ce type de paramètre sur un prédateur situé au sommet des réseaux trophiques comme la notonecte reflétait les altérations structurelles et/ou fonctionnelles des réseaux trophiques induits par les substances toxiques. Des études complémentaires comportant notamment l'analyse simultanée d'autres compartiments (proies) et l'analyse des déterminants de la variation de la signature isotopique des prédateurs sont encore nécessaires avant de pouvoir conclure sur la pertinence de cet outil en écotoxicologie.

- *Peut-on mettre en évidence des relations de causalité entre exposition des individus et effets à des niveaux d'organisation plus élevés (populations et communautés) ?*

Les analyses n'ont pas réellement permis de répondre à cette question. Chez les mollusques gastéropodes toutefois, des liens ont été établis entre des marqueurs mesurés au niveau du système reproducteur et les performances reproductrices des lymnées.

CONCLUSION

Les résultats de ces études confirment qu'un mélange extemporané d'une substance active phytosanitaire et d'un adjuvant de pulvérisation (mélange de cuve de traitement, dont les effets ne sont pas évalués *a priori*) peut avoir des effets écotoxicologiques différents de ceux de la substance active seule. Ces différences découlent à la fois des modifications du devenir de la substance active induites par l'adjuvant de pulvérisation et de sa toxicité propre. Les

données obtenues plaident en faveur d'une évaluation du risque environnemental de niveau élevé (études en micro- ou mésocosmes) effectuée dans les conditions les plus proches possibles de la pratique agricole, c'est à dire en incluant autant que faire se peut les associations extemporanées entre substances actives et adjuvants de pulvérisation. Par ailleurs, des avancées significatives ont été réalisées, que ce soit dans le domaine des outils expérimentaux de laboratoire ou en ce qui concerne des paramètres intégrateurs comme la mesure de l'enrichissement en isotopes stables du carbone et de l'azote.

PARTENAIRES

- Laboratoire d'Écologie (UMR CNRS 7625), École Normale Supérieure, Paris: G. Lacroix, F. Lescher-Moutoué
- UMR 985 INRA-Agrocampus "Écobiologie et Qualité des Hydrosystèmes Continentaux" (EQHC), Équipe Écotoxicologie et Qualité des Milieux aquatiques, Rennes: Th. Caquet, L. Lagadic, M. Heydorff, M. Roucaute, A. Jumel
- Unité Expérimentale d'Écologie et d'Écotoxicologie Aquatique (U3E), INRA, Rennes: D. Azam, A. Quemeneur
- UMR INRA-ENVT INP-ENSAT 1089 "Xénobiotiques", Toulouse: J.-P. Cravedi, M. Baradat
- UMR CNRS Université Rennes 1 6553 "ECO BIO" : G. Bertru, B. Le Rouzic, L. Brient, L. Deydier-Stephan
- SCRIBE Équipe SRP, INRA, Rennes: G. Monod

MÉMOIRES DIPLÔMANTS

- Deydier-Stephan L., 2002. Impacts de xénobiotiques sur les peuplements phytoplanctoniques en mésocosme lentique. Thèse de Doctorat en Sciences, Université Rennes 1.
- Jumel A., 2002. Effets du fomesafène (diphényl ether herbicide) seul et en mélange avec un adjuvant à base de nonylphenols polyéthoxylés chez *Lymnaea stagnalis* (Mollusque Gastéropode) : relations entre biomarqueurs et performances reproductrices. Thèse de Doctorat en Sciences, Université Rennes 1.

PUBLICATIONS ET VALORISATIONS

Publications

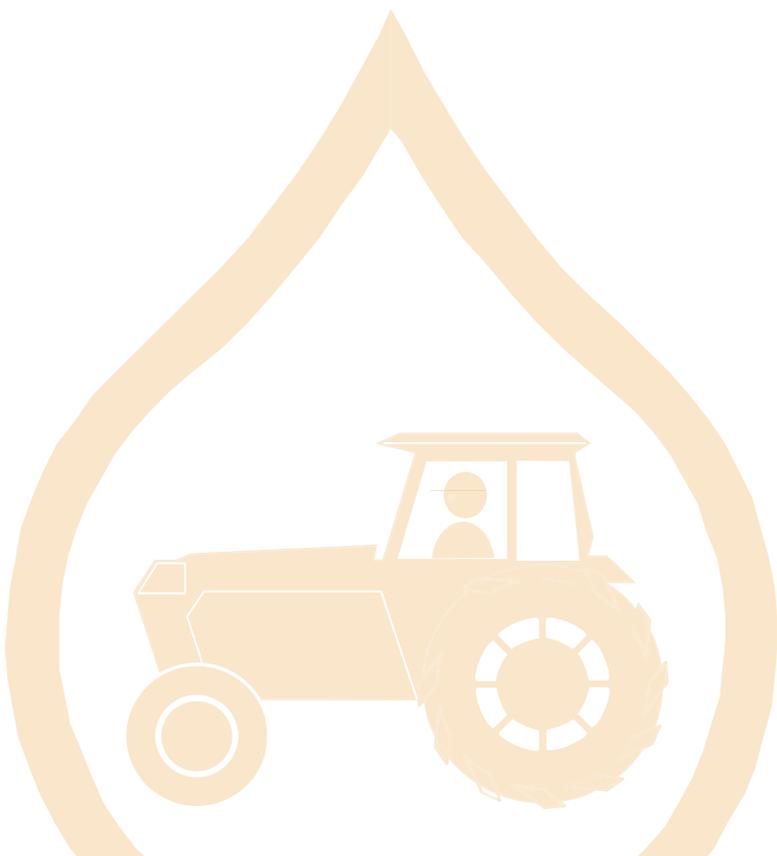
- Jumel A., Coutellec M.-A., Cravedi J.-P. & Lagadic L., 2002. Nonylphenol polyethoxylate adjuvant mitigates the reproductive toxicity of fomesafen on the freshwater snail *Lymnaea stagnalis* in outdoor experimental ponds. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21: 1876-1888.
- Caquet Th., Deydier-Stephan L., Lacroix G., Lescher-Moutoué F. & Le Rouzic B, 2005. Effects of fomesafen, alone and in combination with an adjuvant, on planktonic communities in freshwater outdoor pond mesocosms. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24, 1116-1124.
- Caquet Th., 2005. Use of carbon and nitrogen stable isotope ratios to assess the effects of environmental contaminants on aquatic food webs. *Environmental Pollution* Sous presse.

Communications orales dans des colloques nationaux et internationaux

- Caquet Th., Lagadic L., Cravedi J.-P., Le Rouzic B., Lacroix G., Azam D., Heydorff M., Roucaute, M. & Deydier-Stephan L. Community-level effects of the mixture between a diphenyl-ether herbicide (fomesafen) and a polyethoxylated nonylphenol-based adjuvant (Agral® 90) in outdoor freshwater pond mesocosms. *SETAC Europe 13th Annual Meeting, Hamburg, 27 April-1 May 2003.*

Communications affichées dans des colloques nationaux et internationaux

- Caquet Th., 2004. Use of stable isotopes ratios of carbon and nitrogen to assess the food web effects of environmental contaminants. *4th SETAC World Congress, Portland, 14-18 November 2004.*
- Caquet Th., Lacroix G., Deydier-Stephan L., Le Rouzic B., Cravedi J.-P., Lescher-Moutoué F., Azam D., Heydorff M. & Lagadic L., 2003. Higher-tier risk assessment of fomesafen and fomesafen-nonylphenol polyethoxylate adjuvant mixture. 1. Fate and effects on planktonic communities. *7th International Conference of the AEHMS, Lyon, 15-17 Septembre 2003.*
- Caquet Th., Roucaute M., Heydorff M., Azam D. & Lagadic L., 2003. Higher-tier risk assessment of fomesafen and fomesafen-nonylphenol polyethoxylate adjuvant mixture. 2. Effects on macroinvertebrate communities. *7th International Conference of the AEHMS, Lyon, 15-17 Septembre 2003.*
- Jumel A. & Lagadic L., 2000. Reproductive toxicity of a mixture of fomesafen and nonylphenol polyethoxylates on *Lymnaea stagnalis* (Mollusca, Gastropoda) : preliminary results. *3rd SETAC World Congress, Brighton, 21-25 May 2000.*
- Jumel A., Coutellec M.-A., Cravedi J.-P. & Lagadic L., 2003. Mitigating effect of a polyethoxylated nonylphenol-based adjuvant (Agral® 90) on the toxicity of fomesafen (diphenyl-ether herbicide) in the pond snail *Lymnaea stagnalis*. *13th SETAC Europe Annual Meeting, Hamburg, 27 April-1 May 2003.*
- Jumel A., Coutellec M.-A., Cravedi J.-P. & Lagadic L., 2003. Higher-tier risk assessment of fomesafen and fomesafen-nonylphenol polyethoxylate adjuvant mixture. 3. Changes in individual performances of the snail *Lymnaea stagnalis*. *7th International Conference of the AEHMS, Lyon, 15-17 Septembre 2003.*





APR 1999

VALIDATION D'UN TEST DE LABORATOIRE POUR L'ÉVALUATION ET LA PRÉDICTION DE LA TOXITÉ SUBLÉTALE DE PRODUITS PHYTOSANITAIRES SUR L'ABEILLE DOMESTIQUE

COORDINATEUR SCIENTIFIQUE :

Axel DECOURTYE

ACTA
Association de
Coordination Technique
Agricole

18 avenue des Monts
d'Or, 69890
La Tour de Salvagny,
axel.decourtye@acta.asso.fr

L'estimation de la toxicité des pesticides vis-à-vis des abeilles s'effectue principalement au travers de la mesure d'une DL50 orale ou de contact, les effets sublétaux étant le plus souvent occultés, principalement du fait d'une absence de méthodes standardisées et de critères d'effets clairement identifiés. Pour pallier ces manques, nous avons mis au point un test mesurant les effets sublétaux des pesticides sur l'apprentissage olfactif de l'abeille, processus essentiel lors du comportement de butinage.

Ainsi, le test d'Extension Conditionnée du Proboscis (ECP) reproduit en conditions de laboratoire et sur des abeilles maintenues en contention, un apprentissage olfactif qui a lieu dans le milieu naturel lorsqu'une butineuse visite une fleur. Il comporte une phase de conditionnement au cours de laquelle les abeilles sont entraînées à répondre à un stimulus olfactif grâce à une procédure de conditionnement de type pavlovien. Pour cela, le réflexe d'extension du proboscis (langue) des ouvrières est conditionné en associant la présence d'une odeur à un renforcement alimentaire (solution sucrée proche du nectar). Dans une deuxième phase, on teste le maintien ou non de cette réponse conditionnée lors de présentations successives et non renforcées de l'odeur. Lors de ces deux phases, on enregistre le nombre de réponses conditionnées des individus préalablement exposés à différentes concentrations d'un pesticide ce qui permet, par comparaison à un contrôle, de définir une NOEC (No Observed Effect Concentration) ou une LOEC (Lowest Observed Effect Concentration) pour le pesticide étudié.

L'intérêt de ce test de toxicité sublétale a déjà été démontré au travers de l'étude de quelques pesticides et molécules issues de plantes génétiquement modifiées. Le présent travail s'inscrivait donc avant tout dans un processus de validation de ce test de laboratoire, même s'il a permis d'en améliorer le protocole et plus particulièrement l'exploitation des résultats.

Les pyréthrinoïdes étant couramment utilisés en agriculture, notamment sur les plantes mellifères, notre étude a porté sur cette famille d'insecticides et plus spécifiquement sur les cinq molécules suivantes : la deltaméthrine, la λ -cyhalothrine, le τ -fluvalinate, la cyfluthrine et la cyperméthrine dont nous avons déterminé les NOECs au moyen du test ECP. Dans un deuxième temps, grâce à des essais réalisés en conditions semi-naturelles sous tunnels, nous avons comparé les valeurs de ces NOECs aux concentrations de pyréthrinoïdes auxquelles les abeilles étaient susceptibles d'être exposées lors des pratiques agricoles.

De façon à pouvoir, d'une part, raisonner en concentrations effectives (et non pas seulement en concentrations nominales), et d'autre part, étudier le transfert de ces pesticides de l'environnement à l'abeille, il est apparu nécessaire de développer des protocoles de dosage pour les cinq pyréthrinoïdes étudiés.

Enfin, conjointement à ces études de laboratoire et en conditions semi-naturelles, un travail de modélisation a été entrepris pour établir des relations de type structure-toxicité sur les substances actives, mais également sur les formulations commerciales des pesticides.

LA PROCÉDURE D'EXTENSION CONDITIONNÉE DU PROBOSCIS (ECP) COMME INDICATEUR DES EFFETS SUBLÉTAUX

Le choix des gammes de concentrations à utiliser pour les tests ECP s'est fait classiquement à partir des valeurs de DL50, c'est à dire de la dose qui provoque la mort de 50 % des animaux traités. Seules les DL50 de la deltaméthrine et de la λ -cyhalothrine ont été déterminées expérimentalement (Tableau 1).

Produits	DL50 orale (ng/abeille)		DL50 contact (ng/abeille)	
	24 h	48 h	24 h	48 h
Deltaméthrine	621,8 (455-749,3)*	619,8 (448,7-750,4)	36,1 (28,9-41,7)	34,3 (27,2-39,8)
λ -cyhalothrine	241,7 (181,7-299,1)	241,2 (181,9-297,9)	109,7 (91-125,8)	104,6 (87,6-119,3)

Tableau 1 : DL50 après administration par ingestion ou par contact.

* les valeurs entre crochets représentent l'intervalle de confiance à 95 %.

Pour le τ -fluvalinate, la cyperméthrine et la cyfluthrine, les valeurs des DL50 trouvées dans la littérature ont été utilisées. La DL50 de chaque pesticide divisée par 20 a été choisie comme dose expérimentale la plus élevée dans le test ECP. Ainsi, pour les cinq pyréthriinoïdes étudiés, un traitement oral pendant 11 jours à cette dose n'a eu aucun effet sur la survie des abeilles.

Les tests proprement dits ont consisté à alimenter pendant 11 jours des ouvrières maintenues en cage d'élevage avec des solutions sucrées alimentaires contaminées. Une telle exposition sub-chronique reproduit en laboratoire la situation réaliste d'une intoxication des abeilles au cours de leur développement par l'ingestion de la nourriture stockée au sein de la colonie. Les ouvrières âgées de 14-15 jours, l'âge où elles deviennent butineuses en conditions naturelles, ont été soumises à une procédure d'ECP. A la suite des traitements avec la deltaméthrine (Figure 1) et la cyfluthrine, les abeilles présentaient une diminution des performances d'apprentissage. Ainsi, les NOECs effectives, mesurées par analyses chimiques (chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse) de ces deux molécules sont ≤ 429 $\mu\text{g/l}$ pour la deltaméthrine et ≤ 6 $\mu\text{g/l}$ pour la cyfluthrine. Par contre, aux concentrations testées, aucun effet comportemental significatif n'a été mis en évidence pour les trois autres pyréthriinoïdes étudiés.

Au cours des essais, quatre types de réponses sont enregistrés pour chaque ouvrière testée : une réponse spontanée à l'odeur avant conditionnement (C1), des réponses conditionnées (C2 et C3) et de renforcements (R1, R2 et R3) au cours de la phase de conditionnement et enfin des réponses de résistance à l'extinction du réflexe conditionné acquis dans la phase précédente (T1 à T5).

Dans la pratique, au cours d'un test, l'expérimentateur indique la présence ou non d'une réponse par 1 ou 0. Dans le contrôle et pour les différentes concentrations de pesticide testées, lorsqu'on considère les deux phases, chaque abeille est donc caractérisée par une suite de douze 0 et/ou 1. L'analyse factorielle des correspondances (AFC), fondée sur une métrique du Chi-2, donc privilégiant la notion de profil, nous est apparue particulièrement intéressante pour analyser les différentes réponses obtenues lors de la réalisation des tests. A chaque fois, la réponse spontanée à l'odeur avant conditionnement (C1), a été exclue de l'analyse puisqu'elle n'est pas en relation directe avec le processus d'apprentissage de l'abeille et son altération éventuelle. Les résultats obtenus montrent que l'AFC, simple à réaliser et à interpréter est un outil statistique intéressant pour analyser les réponses des tests ECP.

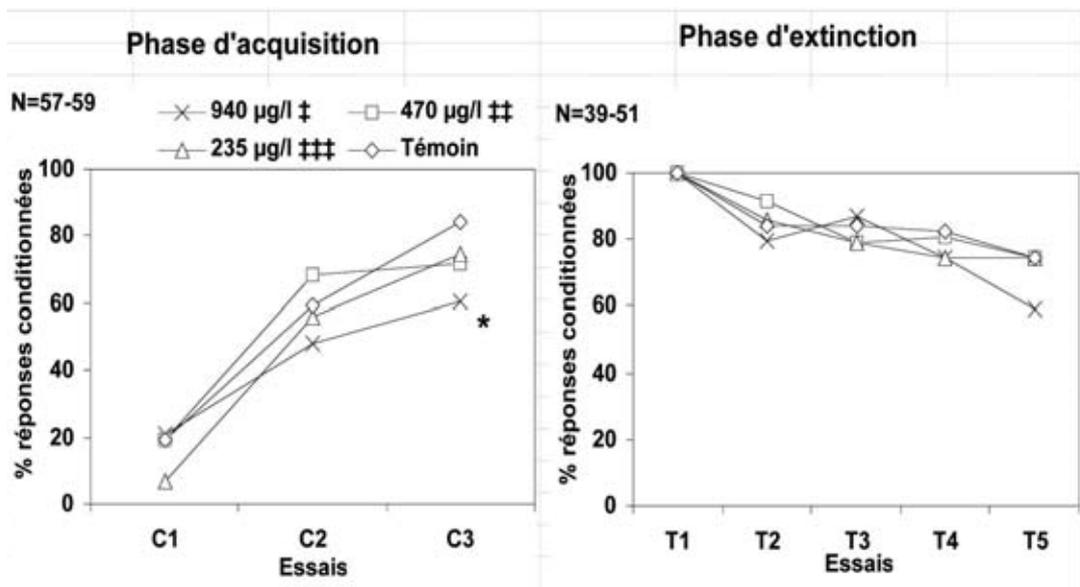


Figure 1 : Performances d'apprentissage après exposition sub-chronique à un pyréthrinoloïde : Exemple de la deltaméthrine.

*traitement significativement différent du lot témoin à $p < 0,016$. Concentrations mesurées entre 848-960 µg/l (†), 359-429 µg/l (††) et 196-221 µg/l (†††).

LES ÉTUDES EN CONDITIONS SEMI-NATURELLES

Il est à noter qu'un violent orage en 2002 et la canicule de l'été 2003 ont fortement perturbé une partie des expérimentations sous tunnels ce qui n'a pas permis de réaliser toutes les études initialement prévues. Ainsi, par exemple, les tests ECP chez des butineuses capturées sous tunnel n'ont pas pu être effectués.

Pour pallier ce manque, des études ont été réalisées pour essayer de définir les concentrations d'exposition de l'abeille aux pesticides étudiés dans les conditions normales de la pratique. Pour cela, nous avons appliqué par pulvérisation des préparations de Mavrik Flo® (240 g/l de τ -fluvalinate) à 0,2 l/ha, de Décis Micro® (6,25 % de deltaméthrine) à 0,08 kg/ha et Baythroid® (50 g/l de cyfluthrine) à 20 g/ha, sur des plantes mellifères en fleurs cultivées sous tunnel. Des échantillons de fleurs, de butineuses et d'abeilles mortes ont été prélevés et les résidus des trois pesticides testés ont été quantifiés par analyse dans l'ensemble de ces matrices.

Les résultats obtenus sont difficiles à relier directement aux essais ECP réalisés au laboratoire.

Le Tableau 2 montre des différences assez importantes selon les matrices analysées. Les concentrations en résidus dans les fleurs diminuent rapidement avec le temps. Cette diminution est également visible chez les butineuses mais elle est moins nette.

Spécialité commerciale	Matrice	Avant traitement	4 h après traitement	24 h après traitement
Mavrik Flo®	Butineuses	nd*	0,55 ± 0,37	0,19 ± 0,15
	Fleurs	nd	14,43 ± 2,86	10,98 ± 1,62
Décis Micro®	Butineuses	nd	0,04 ± 0,02	0,02 ± 0,01
	Fleurs	nd	1,42 ± 0,62	0,92 ± 0,26
Baythroid®	Butineuses	nd	0,06 ± 0,005	0,05 ± 0,02
	Fleurs	nd	9,96 ± 1,15	5,36 ± 1,96
	Abeilles mortes	nd	1,34 ± 0,25	0,5 ± 0,17

Tableau 2 : Concentrations maximales en résidus de pesticides (mg/kg de matière sèche).

* nd : non détecté < 0,01 mg/kg (chromatographie en phase gazeuse/détecteur à capture d'électrons).

La comparaison des concentrations en résidus dans les abeilles soumises à la procédure d'ECP et celles trouvées dans les butineuses (Tableau 2) laisse supposer que dans les conditions de la pratique, et aux doses d'application recommandées, le Décis Micro® n'entraîne pas d'effets négatifs à court ou à long terme sur l'apprentissage des butineuses. Par contre, le Baythroid® provoque des effets à court terme. Une analyse de résidus n'ayant pas été réalisée sur les abeilles soumises au test ECP avec le τ -fluvalinate, aucune interprétation ne peut donc être avancée.

Il est important de souligner que cette étude a permis de mettre au point des protocoles d'analyses de résidus dont l'intérêt pratique est évident.

RECHERCHE DE RELATIONS DE TYPE STRUCTURE-TOXICITÉ ET COMPARAISONS INTERSPÉCIFIQUES

Du fait de l'absence de modèles de type structure-activité (QSAR) vis-à-vis de l'abeille, dans le cadre de ce programme, il nous est apparu intéressant d'en élaborer un et de ne pas restreindre son utilisation à la modélisation de la toxicité des pyréthriinoïdes mais de l'étendre à toutes les familles de pesticides. Pour des raisons d'ordre méthodologique mais aussi des contraintes de temps et de disponibilité des données, ce modèle n'a pu être élaboré qu'à partir de résultats de toxicité aiguë. Ainsi des DL50 pour 100 pesticides ont été utilisées pour construire et calibrer le modèle QSAR. Les molécules étaient décrites par la méthode d'autocorrélation et un réseau de neurones multicouche à apprentissage supervisé par un algorithme à rétropropagation du gradient a été employé comme moteur statistique.

Cependant, comme tous les modèles QSAR appliqués ou non aux pesticides, ce modèle ne concerne que les substances actives qui seules peuvent être codées d'une façon précise par des descripteurs topologiques ou physico-chimiques.

C'est la raison pour laquelle nous nous sommes intéressés plus spécifiquement aux effets écotoxicologiques des formulations commerciales des pesticides en comparant les sensibilités respectives d'*Apis mellifera*, de *Megachile rotundata* et de *Nomia melanderi* vis-à-vis de ces molécules. De la même façon, il nous était apparu intéressant de ne pas restreindre notre étude au seul cas des pyréthriinoïdes mais également de l'étendre aux autres familles d'insecticides ainsi qu'aux herbicides, fongicides, etc. De ce fait, 158 pesticides, classés selon quatre critères de toxicité correspondant à leurs différentes périodes d'application, ont été analysés à partir de différentes approches multivariées linéaires et non linéaires. Les résultats obtenus révèlent que les pesticides (substances actives ou formulations) très toxiques vis-à-vis d'*A. mellifera* le sont aussi (à deux exceptions près) vis-à-vis de *M. rotundata* et de *N. melanderi*. De la même façon, les pesticides faiblement toxiques vis-à-vis de l'abeille le sont également vis-à-vis des deux autres espèces d'Hyménoptères pollinisateurs. Seuls deux pesticides ne suivent pas cette règle. Cependant, notre étude révèle qu'*A. mellifera*, *M. rotundata* et *N. melanderi* présentent généralement des comportements différents vis-à-vis des matières actives des pesticides et de leurs différentes spécialités commerciales. Ainsi, *M. rotundata* est la plus sensible et *A. mellifera* la plus tolérante. Outre leurs caractéristiques écologiques pouvant expliquer ces différences, on s'aperçoit qu'il existe une relation directe entre la masse moyenne de ces insectes et leur sensibilité aux pesticides puisque les masses moyennes de *M. rotundata*, *N. melanderi* et *A. mellifera* sont respectivement de 0,036, 0,100 et 0,118 g.

CONCLUSION

Cette étude réalisée sur les pyréthriinoïdes confirme l'intérêt du test ECP pour évaluer la toxicité sub létale des pesticides chez l'abeille domestique (*Apis mellifera*). La réponse comportementale sur laquelle repose ce bio-essai possède une forte pertinence écologique, elle est quantifiable et les conditions de laboratoire assurent un bon contrôle des caractéristiques du protocole (élevage, traitement, conditionnement). L'utilisation de cette

procédure dans une approche écotoxicologique, nous a permis de mettre en évidence plusieurs de ses points forts : sensibilité à des concentrations sublétales, définition de relations concentration-réponse et de concentration-seuils, sensibilité à des molécules ayant différents modes d'action. L'utilisation de l'Analyse Factorielle des Correspondances (AFC) pour analyser les résultats facilite grandement leur interprétation, favorise les comparaisons entre produits et l'analyse critique des protocoles expérimentaux employés.

La procédure d'ECP apparaît comme un outil adapté pour combler l'absence de procédures standardisées permettant d'évaluer la toxicité sublétale des pesticides chez l'abeille. Son intégration parmi les tests requis en pré-homologation des pesticides devrait donc être envisagée.

Dans un deuxième temps, grâce à des essais réalisés en conditions semi-naturelles sous tunnels, il a été possible de mieux estimer les concentrations auxquelles les abeilles étaient susceptibles d'être exposées lors de pratiques agricoles utilisant les pyréthrinoïdes étudiés. Les valeurs obtenues ont été comparées à celles ayant permis de déterminer les NOECs de ces produits au laboratoire.

Ce travail a permis d'adapter des méthodes d'analyses chimiques déjà existantes au dosage des résidus de pyréthrinoïdes qui sont des insecticides largement appliqués sur cultures mellifères en cours de floraison. Ces méthodes sont dorénavant utilisables sur des matrices complexes, telles que les abeilles vivantes ou mortes. Ainsi, nous disposons à présent de méthodes analytiques multi-résidus de pyréthrinoïdes, à faibles limites de détection, et facilement transposables à d'autres matrices biologiques. Puisqu'une procédure d'évaluation des risques des pesticides, récemment mise au point chez l'abeille, nécessite la caractérisation des concentrations d'exposition (PECs), il est important de mettre au point des protocoles permettant d'analyser les résidus de pesticides dans l'abeille et son environnement.

Pour la première fois, un modèle QSAR a été élaboré pour simuler la toxicité de tous les pesticides vis-à-vis de l'abeille. En pratique, ce modèle peut-être utilisé pour prédire la toxicité de pesticides non synthétisés, pour comprendre des mécanismes d'action, pour rationaliser la réalisation d'un test de toxicité aiguë normalisé, en facilitant la détermination de la gamme de concentrations à tester ou pour choisir des concentrations de références pour réaliser des tests de toxicité sublétale. Il trouve donc des applications aussi bien en recherche que lors des procédures d'homologation des produits phyto-pharmaceutiques. Enfin, des approches statistiques linéaires et non linéaires ont été employées pour étudier la sensibilité spécifique d'*Apis mellifera*, de *Megachile rotundata* et de *Nomia melanderi* aux substances actives des pesticides ainsi qu'à leurs différentes formulations commerciales. Cette étude a permis de mieux appréhender l'écotoxicité des différents types de formulations sur trois espèces d'hyménoptères jouant un rôle important dans la pollinisation. De plus, pour la première fois, l'analyse ne s'intéressait pas uniquement aux insecticides mais également aux herbicides, fongicides, etc., catégories de pesticides dont les effets sont peu étudiés vis-à-vis de l'abeille et des autres pollinisateurs.

PARTENAIRES

- J. Devillers, CTIS, 3 chemin de la Gravière, 69140 Rillieux-la-Pape
- H. Buzdinski et K. Le Ménach, Laboratoire de Physico-Toxico-Chimie, UMR 5472 CNRS, Université de Bordeaux 1, 351 crs de la Libération, 33405 Talence
- A. Mouchart, ACTA, 149 rue de Bercy, 75595 Paris Cedex 12
- M. Tisseur, ACTA, La Saulsaie, 01120 Montluel
- M.H. Pham-Delègue, CNRS Relations Internationales, 3 rue Michel Ange, 75794 Paris cedex 16

Renaud Denoyelle, étudiant en maîtrise à l'université d'Orsay.

PUBLICATIONS ET VALORISATIONS

Présentation des résultats dans des colloques nationaux et internationaux

- 15th Annual Meeting SETAC Europe, Lille, 22-26 mai 2005 (Poster).
- Congrès du Groupement Français des Pesticides, Dijon, 26-28 mai 2004 (Présentation orale).
- Restitution des travaux du programme de recherche Pesticides du MEDD, Rennes, décembre 2003 (Présentation orale).
- Computational Methods in Toxicology and Pharmacology Integrating Internet Resources (CMTPI 2003) Thessalonique, 17-19 septembre 2003 (Présentation orale).
- Colloque organisé par l'Union Internationale pour l'Etude des Insectes Sociaux. Section française. INRA de Versailles. 16-18 septembre 2002 (Présentation orale).
- 8th International Symposium: Hazards of Pesticides to Bees, Bologne, Italie, 4-6 septembre 2002 (Présentation orale).
- 14th European Symposium on Quantitative Structure-Activity Relationships, Bournemouth, UK, 8-13 septembre 2002 (Poster).

Articles publiés depuis le début du programme

- Decourtye A., Devillers J., Genecque E., Le Menach K., Budzinski H., Cluzeau S. & Pham-Delègue M.H. (2005) Comparative sublethal toxicity of nine pesticides on olfactory learning performances of the honeybee *Apis mellifera*. *Archives Environmental Contamination Toxicology*, 48, 242-250.
- Decourtye A., Tisseur M., Taséi J.N. & Pham-Delègue M.H. (2005). Toxicité et risques liés à l'emploi de pesticides chez les pollinisateurs : cas de l'abeille domestique. In : *Enjeux Phytosanitaires pour l'Agriculture et l'Environnement du XXI^e Siècle*, C. Regnault-Roger coord., Tec et Doc Lavoisier, Paris, 283-299.
- Devillers J., Pham-Delègue M.H., Decourtye A., Budzinski H., Cluzeau S. & Maurin G. (2003). Nonlinear QSAR modeling of the acute toxicity of pesticides to honey bees. *EuroQSAR 2002: Designing Drugs and Crop Protectants* (M. Ford, D. Livingstone, J. Dearden and H. van de Waterbeemd, Eds.) Blackwell Publishing Ltd, UK, pp. 296-297.
- Devillers, J., Pham-Delègue, M.H., Decourtye, A., Budzinski, H., Cluzeau, S. & Maurin, G. (2003). Modeling the acute toxicity of pesticides to *Apis mellifera*. *Bull. Insect.* 56, 103-109.
- Devillers, J., Pham-Delègue, M.H., Decourtye, A., Budzinski, H., Cluzeau, S. & Maurin, G. (2003). Comparative toxicity and hazards of pesticides to *Apis* and non-*Apis* bees. A chemometrical study. *SAR QSAR Environ. Res.* 14, 389-403.
- Devillers, J., Pham-Delègue, M.H., Decourtye, A., Budzinski, H., Cluzeau, S. & Maurin, G. (2002). Structure-toxicity modeling of pesticides to honey bees. *SAR QSAR Environ. Res.* 13, 641-648.



APR 1999

MÉTHODE DE DÉTECTION ET D'ÉVALUATION DES EFFETS DES PESTICIDES SUR LES MICRO-ORGANISMES DU SOL

COORDINATEUR SCIENTIFIQUE :

Guy SOULAS

UMR INRA,
ENITAB - Univ. Bordeaux 2
"Oenologie –
Ampélogie"

33400 Talence cedex.

Tél. 05 40 00 66 56
guy.soulas@
oenologie.u-bordeaux2.fr

L'effet des pesticides sur les communautés microbiennes des sols reste mal connu car abordé par des approches globales basées sur des mesures de biomasse, d'activité respiratoire et d'activité métabolique ou évaluant des flux d'éléments dans les sols. Ces approches manquent souvent de sensibilité en raison des phénomènes de réajustements structuraux et de redondance fonctionnelle qui caractérisent les communautés microbiennes complexes présentes dans les milieux naturels. Le développement des techniques, notamment de biologie moléculaire, ciblant la structure métabolique ou génétique des communautés microbiennes a permis d'élargir la panoplie des bioindicateurs potentiels. Ainsi, la diversité spécifique des communautés microbiennes peut en effet être évaluée en analysant la distribution de séquences génétiques relativement conservées dans le monde vivant (l'ADN codant pour les ARN ribosomiques) et qui, pour cette raison, ont une valeur phylogénique. Ces approches ciblant la diversité microbienne permettent en théorie d'appréhender plus finement l'impact des pesticides sur la microflore des sols, notamment lorsque les modifications de structure ne se traduisent pas obligatoirement en termes fonctionnels.

LES OBJECTIFS DU PROJET

Globalement, ce travail visait à tester la qualité indicatrice et opérationnelle d'un ensemble de descripteurs du comportement microbien dans les sols, faisant notamment référence à des caractéristiques de diversité. Une particularité de ce projet a été de cibler plus spécifiquement les champignons dont le rôle dans le fonctionnement biologique des sols est fondamental. En effet, ces organismes incluent un grand nombre d'agents phytopathogènes et d'agents antagonistes des pathogènes mais également, ce sont des décomposeurs primaires de la matière organique. Ils constituent un maillon essentiel de la microflore des sols et leur contribution à la qualité biologique des sols vaut probablement celle de la flore bactérienne.

Deux pesticides ont été choisis, le DNOC (produit de référence dont l'activité de découplage des phosphorylations énergétiques est bien connue) et l'azoxystrobine, un fongicide susceptible de perturber la structure et le fonctionnement de la communauté fongique des sols. C'est essentiellement par rapport à un critère de qualité sanitaire que les deux sols ont été sélectionnés : le sol de Dijon, résistant aux maladies dues à *Fusarium oxysporum* et plutôt sensible aux maladies dues à *Rhizoctonia solani* et le sol d'Ouroux, qui présente des propriétés de résistance inverses. Ponctuellement, pour des besoins de validation technique, d'autres sols ont été sélectionnés pour des propriétés biologiques particulières et en fonction de pollutions métalliques ou organiques bien caractérisées. Trois aspects ont été abordés.

1 : Analyses de résidus de pesticides dans les sols.

Il s'agissait de définir les cinétiques de dissipation des 2 produits utilisés dans les deux sols retenus afin de pouvoir relier les effets écotoxicologiques observés à leur persistance.

2 : Analyses microbiologiques : approches fonctionnelles et moléculaires

Deux communautés-test, l'une dégradant le 2,4-D et l'autre l'atrazine, ont été ciblées en raison d'une composition spécifique relativement réduite limitant les possibilités de compensation fonctionnelle vis à vis d'agressions extérieures. Les études suivantes ont été réalisées :

- analyse de la modification de la diversité fonctionnelle de la communauté microbienne dégradant le 2,4-D en réponse à une exposition au DNOC.
- analyse comparée de la réponse fonctionnelle et de l'adaptation génétique, exprimée en nombre de copies de gènes cataboliques impliqués, de communautés microbiennes dégradant l'atrazine. L'adaptation des sols à la dégradation d'un pesticide étant un processus lent, cette étude n'a pu être réalisée qu'avec des sols pris à différents états d'adaptation et par ailleurs connus pour des pollutions métalliques et organiques anciennes et bien caractérisées. Parallèlement, dans ces mêmes sols et à titre de référence, nous avons également comparé la composition des communautés microbiennes après analyse de l'ADN extrait des sols.

3 : Analyses microbiologiques : caractérisation de la qualité phytosanitaire des sols

Afin d'évaluer d'éventuels effets secondaires sur la qualité phytosanitaire de sols consécutifs à l'utilisation de pesticides, nous avons mis en œuvre une batterie de tests (réceptivité des sols à des agents pathogènes, croissance radiale, enzymatiques) et de mesures (dénombrements, diversité métabolique, diversité spécifique) dont nous avons comparé la qualité indicatrice

PRINCIPAUX RÉSULTATS

Analyses des résidus de pesticides dans les sols.

Il ressort de cette étude que :

- avec une demi-vie inférieure à 15 jours, le DNOC a probablement un effet direct limité à des effets aigus. Cette caractéristique est intéressante pour analyser la réversibilité des effets observés.
- pour l'azoxystrobine, une persistance plus élevée (demi-vie atteignant 3 mois) contribue au maintien d'un potentiel de toxicité qui pourrait favoriser les effets chroniques.

Analyses microbiologiques : approches fonctionnelles et moléculaires

Analyse de la diversité fonctionnelle de la communauté microbienne dégradant le 2,4-D

Nous avons effectivement confirmé que le potentiel de minéralisation d'agrégats individuels de sol variait largement et qu'une exposition au DNOC contribuait à une modification sensible de la distribution de ces potentiels. Par rapport à un objectif opérationnel, la notion de profil fonctionnel auquel conduit cette étude s'avère fructueuse : elle repose sur un *dispositif expérimental simple*, la plaque de microtitration, qui permet d'accéder à un débit analytique en accord avec un suivi environnemental et sur une *comparaison de distributions* de potentiels d'activités plus adaptée au contexte de variations spatio-temporelles qui caractérisent les structures de communautés et les fonctions microbiennes dans les milieux naturels.

Impact de différents amendements organiques sur la capacité des sols à dégrader l'atrazine.

Quantification des gènes impliqués

Dans une partie plus prospective, ce travail consistait à essayer de relier un indicateur fonctionnel, l'activité de minéralisation de l'atrazine (mesurée par radiospirrométrie), à un descripteur possible de l'état d'adaptation du sol à cette dégradation, le nombre de

copies des gènes impliqués dans la dégradation (*atz A, B et C*). L'adaptation des sols à la dégradation d'un composé xénobiotique étant un processus s'étalant sur des décennies, pour valider cette approche, nous avons retenu des sols combinant différents niveaux de capacité de dégradation de l'atrazine et différents types de pollution métallique et organique (HAP) installées et bien caractérisées.

Le nombre de copies des gènes *atz A, B et C* (déterminé par PCR quantitative en temps réel) du sol de Pierrelaye ($\approx 8 \cdot 10^{+4}$ copies g^{-1} de sol) est 4 fois plus élevé que celui des sols de La Bouzule et de Couhins ($\approx 2 \cdot 10^{+4}$ copies g^{-1} de sol). Cette observation est globalement en accord avec les tests d'activité de minéralisation de l'atrazine. La conclusion est moins évidente lorsqu'on compare les sols de La Bouzule et de Couhins qui se distinguent par des capacités de minéralisation très différentes malgré des niveaux génétiques comparables. Par ailleurs, si le niveau de pollution semble affecter le nombre de copies de gènes, ce résultat n'a de réelle signification statistique que dans le cas du sol de Pierrelaye où la présence d'éléments traces métalliques (Zn et Cu) contribue à abaisser significativement le nombre de copies des 3 gènes *atz A, B et C* sans réelle conséquence cependant sur la capacité de minéralisation de ce sol.

On peut donc conclure que, au regard du seul exemple de la dégradation de l'atrazine, il n'existe pas de lien causal bien établi entre le nombre de copies de gènes et la fonction dont ils assurent l'expression. Des mécanismes de régulation post-traductionnelle en liaison avec les caractéristiques du milieu environnant sont probablement à l'origine de ce résultat qui ouvre quelques perspectives de recherche intéressantes.

Les résultats concernant l'étude de la diversité des communautés microbiennes de ces différents sols sont également mitigés. Si les trois techniques utilisées, RISA (Ribosomal Intergenic Spacer Analysis), ARDRA (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis) et clonage et restriction des gènes codant pour les ARNr 16S amplifiés par PCR à partir de l'ADN extrait de ces sols, permettent sans aucun doute de différencier les communautés microbiennes correspondantes, seule la technique RISA semble suffisamment discriminante pour permettre de mettre en évidence des différences générées par la présence de polluants dans un même type de sol. Ces résultats pourraient traduire à la fois un manque de sensibilité de ces techniques vis-à-vis de modifications d'ampleur limitée dans la distribution des espèces majoritaires et une impossibilité à détecter ces modifications pour un nombre important d'espèces sous représentées. Ainsi que nous l'avons souligné à propos des communautés microbiennes dégradant le 2,4-D présentes dans des agrégats millimétriques de sol, la prise en compte de la variabilité spatiale dans la structure de la communauté microbienne des sols pourrait permettre de révéler des réponses locales différenciées liées à une diversification dans la composition des associations microbiennes testées.

Les difficultés que nous avons rencontrées dans l'amplification des gènes cataboliques codant pour la catéchol 2,3-dioxygénase, ne nous ont pas permis de conclure quant à l'intérêt du couple d'amorces que nous avons sélectionné pour analyser la diversité et la concentration des gènes codant pour cette enzyme qui joue un rôle central dans le métabolisme des composés aromatiques, donc de la matière organique des sols.

Analyses microbiologiques : caractérisation de la qualité phytosanitaire des sols

Le manque de données écotoxicologiques concernant les champignons telluriques a été abordé au travers d'une panoplie d'essais biologiques dont certains, dont la mise en œuvre est relativement simple, apparaissent comme des indicateurs potentiels de l'impact écotoxicologique des produits phytosanitaires.

Résistance des sols – tests de réceptivité

Bien que de conception déjà ancienne, les tests de réceptivité des sols aux maladies fongiques n'ont eu que peu d'applications dans le domaine de l'écotoxicologie. Leur utilisation nous a permis de démontrer que l'application de DNOC et d'azoxystrobine n'avait aucune conséquence significative sur le niveau de résistance des 2 sols testés aux maladies dues à *F. oxysporum*. Ainsi, une analyse de variance sur les valeurs de la surface

sous la courbe de progression de la maladie (nombre cumulé de plantes mortes au cours du temps qui mesure la réceptivité du sol) révèle que le sol de Dijon est plus résistant que celui d'Ouroux aux maladies dues à *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini* souche Foln3, pathogène du lin, mais qu'il n'y a pas de modifications significatives du niveau de résistance de chacun des 2 sols à cette fusariose, quelle que soit la dose de pathogène, suite à l'apport de DNOC ou d'azoxystrobine dans ces sols. De même, alors que le DNOC n'a pas révélé d'effet significatif sur le niveau de résistance des 2 sols aux maladies dues à *Rhizoctonia solani* AG2-2 souche G6, responsable de fontes de semis sur pin, l'azoxystrobine réduit significativement ($p < 0,05$) le niveau de réceptivité des 2 sols.

Développement mycélien - tests de croissance radiale

La mesure de la vitesse de croissance radiale de différentes souches de champignons fréquemment rencontrés dans les agro-systèmes (agents pathogènes et champignons non pathogènes, champignons à croissance lente et à croissance rapide) en présence de différentes doses de DNOC et d'azoxystrobine a révélé une grande diversité de sensibilité aux deux pesticides ainsi qu'une relation dose-réponse plus marquée dans le cas du DNOC pour lequel la dose de 50 mg/L est létale pour les souches de *Pythium* et de *Phytophthora* que dans celui de l'azoxystrobine pour laquelle, malgré une réduction sensible de croissance, aucun des niveaux de concentrations choisis n'est létal. Par ailleurs, en présence d'azoxystrobine, la souche G6 de *R. solani*, utilisée dans le test de réceptivité montre une très forte réduction de croissance tandis que les souches à croissance lente, c'est le cas des souches appartenant *Fusarium* en particulier la souche Foln35, sont moins affectées. Ces observations sont en accord avec les résultats des tests de réceptivité.

Densités microbiennes - tests de dénombrement

Qu'il s'agisse de la technique d'étalement après suspensions-dilution ou d'inclusion dans des milieux gélosés, globalement, on ne constate pas de modifications significatives des densités bactériennes dans les premières heures suivant l'apport d'azoxystrobine ou après 13 jours d'exposition alors que l'on observe une augmentation de la densité bactérienne dans toutes les modalités, à l'exception du sol d'Ouroux exposé au DNOC qui reste à son niveau initial de densité. Aucun des 2 pesticides n'entraîne de variation des densités fongiques.

Cette étude confirme la faible valeur de discrimination des tests de dénombrement qui tiennent vraisemblablement à des ré-équilibrages dans les rapports d'abondance entre espèces microbiennes.

Au final, si l'ensemble de ces tests *in vitro* révèle la sensibilité des champignons du sol aux pesticides, ils montrent aussi la nécessité d'aborder cette question en multipliant les approches techniques. Ainsi, alors que les tests de réceptivité permettent de conclure à un effet particulier de l'azoxystrobine, un fongicide, et à une inocuité apparente du DNOC, les tests de croissance radiale conduisent à une conclusion différente : dans ce cas, seul le DNOC réduit significativement la croissance de l'ensemble des souches fongiques étudiées.

Activité microbienne globale - test enzymatique

L'activité déshydrogénase est, parmi les tests enzymatiques, l'un des plus pertinent d'une part parce que les enzymes impliquées ne sont actives que dans le milieu intracellulaire, d'autre part en raison de sa simplicité technique. En fait, le niveau d'activité déshydrogénase du sol d'Ouroux est si faible que l'on n'a pas pu la détecter. Dans le sol de Dijon, aucune différence d'activité n'est apparue quels que soient le produit appliqué et la période d'exposition. A nouveau, une approche mettant à profit une variabilité spatiale assez largement reconnue pour ce type d'activité enzymatique, pourrait permettre de révéler des effets locaux différenciés contribuant à une meilleure appréciation de l'impact écotoxicologique. De même d'autres activités enzymatiques pourraient être envisagées sous réserve de trouver un dispositif expérimental susceptible de prendre en compte la multiplicité des tests et l'approche spatialisée nécessaire à leur caractère discriminant. Le dispositif de plaques de microtitration associé à des lectures spectrophotométriques et fluorimétriques est une solution envisageable.

Diversité microbienne – profils métaboliques

Les profils métaboliques des communautés bactériennes ont été établis sur la base d'inoculations de suspensions de sols traités ou non dans des microplaques Biolog contenant 95 substrats organiques différents dont la consommation est révélée par la coloration d'un indicateur redox jouant le rôle d'accepteur d'électrons au cours de la dégradation du substrat. Si les communautés bactériennes des sols de Dijon et d'Ouroux présentent des diversités métaboliques très différentes, les profils métaboliques établis par les communautés bactériennes suite aux amendements ne sont par contre pas différenciables des profils des communautés d'origine. Le temps d'exposition ne change pas fondamentalement ces conclusions.

Diversité microbienne – profils phylogéniques

Les empreintes moléculaires (obtenues par T-RFLP Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism) des communautés bactériennes des échantillons de sol de Dijon ne révèlent aucune modification de structure de ces communautés consécutive à un apport de DNOC ou d'azoxystrobine, quelle que soit la durée de l'exposition. Dans le sol d'Ouroux, une incubation du sol induit une modification de la structure spécifique des communautés microbiennes, sans incidence particulière évidente des pesticides sur ces réorganisations structurales.

L'analyse des empreintes moléculaires des communautés fongiques du sol de Dijon, effectuées 0 et 13 jours après amendements conduisent à des conclusions similaires. Dans le sol d'Ouroux, on observe une modification de structure de la communauté fongique tout de suite après l'amendement, révélant un effet direct de ces pesticides, notamment de l'azoxystrobine, sur des populations fongiques. Après 13 jours ces différences ont disparu.

Qu'elles se réfèrent à un profil d'utilisation de substrats carbonés (diversité métabolique) ou à une structure de communauté microbienne (diversité phylogénique), les études de diversité ne confirment pas, dans les conditions d'application de cette étude, les propriétés supposées de sensibilité et de discrimination qui ont été à l'origine de leur développement. Dans le premier cas, une solution possible pourrait passer par un choix plus judicieux des substrats carbonés, faisant notamment une part plus importante aux composés aromatiques issus de la dégradation de la lignine. Dans le second cas, les étapes initiales de la procédure analytique, l'extraction de l'ADN et la PCR, toutes deux très sélectives, sont probablement en cause. Dans les 2 cas, comme suggéré précédemment, une démarche basée sur une addition d'effets observés à une échelle locale nous semble plus prometteuse que la recherche d'un effet moyen à une échelle plus globale.

CONCLUSIONS GÉNÉRALE

Ce travail confirme que l'appréciation des effets des pesticides sur la microflore des sols ne peut résulter que de la mise en oeuvre d'un ensemble de procédures techniques et que l'approche spatiale, prise comme outil permettant de générer des structures de communautés microbiennes variables à redondance fonctionnelle limitée, pourrait contribuer à augmenter l'efficacité du diagnostic écotoxicologique au travers de relations de type "composition/structure – réponse" analogues aux relations "doses – réponse".

PARTENAIRES

- Duran Robert, Université de Pau et des Pays de l'Adour, Laboratoire d'Ecologie Moléculaire, IBEAS – UFR Sciences et Techniques – BP 1155.
- Bastide Jean, Université de Perpignan, Centre de Phytopharmacie URA CNRS 461, 52 avenue de Villeneuve, F-66860 Perpignan Cedex.
- Steinberg Christian, INRA/CMSE, Laboratoire de la Flore Pathogène dans le Sol, 17 Rue Sully, F-21034 Dijon Cedex.

STAGIAIRE AYANT PARTICIPÉ AU PROJET

- Cornet Laurent. ITA Formation continue "Génétique et Amélioration des plantes" ENESAD Dijon.

PUBLICATIONS ET VALORISATIONS

- Lors, C., B. Lagacherie, C. Chabanet, G. Soulas. 2005. DNOC, a model pollutant, adversely affects the potential of soil microbial communities to mineralise the herbicide 2,4-D: an investigation using micro-sampling procedures. *Soil Biology and Biochemistry*, 37, 1023-1032.
- Martin-Laurent F., Cornet L., Ranjard L., Lopez-Gutiérrez J.C., Philippot L., Schwartz C., Chaussod R., Catroux G.,



APR 1999

RÉPONSES DES MICROALGUES D'EAUX DOUCES AUX POLLUTIONS PAR LES PESTICIDES

COORDINATEUR SCIENTIFIQUE :

Christophe LÉBOULANGER

IRD UR 167 CyRoCo,
c/o UMR CNRS 5119,
CC093, Université
Montpellier II, 34095
Montpellier cedex 5,
leboulan@mpl.ird.fr

LES MICROALGUES D'EAUX DOUCES: UN OUTIL D'ÉVALUATION POUR LE RISQUE "PESTICIDES"

Le projet proposé en 1999 envisageait d'étudier les réactions de communautés algales naturelles, planctoniques (phytoplancton) et benthiques (périphyton), aux stress causés par les pesticides. La démarche adoptée reposait sur le principe du PICT, qui postule que les communautés soumises à des pollutions chroniques sont plus tolérantes à une augmentation provoquée de cette pollution que les communautés indemnes. Nous proposons donc d'adapter des mesures physiologiques, liées au métabolisme photosynthétique (fluorescence, production primaire), pour détecter et quantifier les phénomènes de tolérance aux pesticides des communautés algales naturelles de lac et de rivière. Ces mesures physiologiques, associées à des estimations de la richesse taxonomique des communautés et à des études sur la variabilité génétique des espèces dominantes, devaient par ailleurs donner des indications précieuses sur la qualité globale du compartiment algal, et sur sa capacité de restauration suite à une pollution.

Projet réalisé de 2001 à 2004 au sein de l'Equipe Microbiologie Aquatique de l'INRA, UMR CARRTEL, 74200 Thonon les Bains

DÉROULEMENT

Nous avons entrepris la mise au point et la validation de protocoles expérimentaux utilisables sur le terrain, sur des communautés algales naturelles variées, et capables de répondre à plusieurs questions :

- 1** - le peuplement algal étudié subit-il ou a-t-il subi récemment une pollution par un ou des pesticides déterminés ?
- 2** - si oui, son fonctionnement et/ou sa diversité s'en sont-ils trouvés altérés ?
- 3** - le peuplement algal est-il à même de retrouver rapidement sa diversité et sa fonctionnalité initiales ("restauration") ou est-il durablement modifié ?

C'est dans cette optique qu'a été développé le principe du PICT¹, visant à caractériser l'exposition passée d'une communauté algale à un polluant donné. Ce principe postule qu'un organisme donné, s'il se développe en contact avec un pesticide donné, va développer des phénomènes de tolérance et/ou de résistance à ce polluant (éventuellement à d'autres molécules de mode d'action proche) par la pression de sélection induite par ce polluant (cf. Fig. 1). Dans ce cas, l'application expérimentale d'une nouvelle dose de pesticide produira des effets moins intenses sur cette communauté

1 Acronyme de "Pollution induced community tolerance", principe postulant qu'une communauté naturelle ou artificielle exposée à une pression de pollution développe, par sélection, une tolérance accrue aux polluants impliqués (Blank H., Wangberg S. & Molander S. 1988, Pollution induced community tolerance - A new ecotoxicological tool. In Cairns Jr. J & Pratt J. R. Eds Functional testing for estimating hazards of chemicals. Vol. 988. Philadelphia ASTM STP.219-230).

tolérante, que sur un peuplement similaire " vierge " n'ayant pas le même passé de pollution.

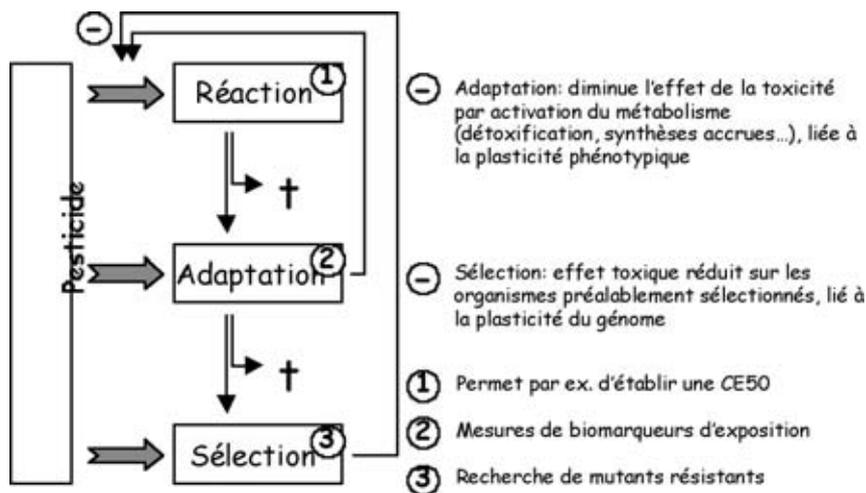


Figure 1. Trois niveaux de réponse des microalgues aux stress toxiques causés par les pesticides. La mort des cellules (†) en elle-même n'est généralement pas utilisée comme descripteur des effets toxiques dans la littérature.

- Sur des modèles de laboratoire (cultures monoclonales de chlorophycées) nous avons démontré qu'un herbicide appliqué à dose létale (supérieure à la CE50) conduisait à la sélection dans le milieu de mutants résistants, sur lesquels nous n'avons pas pu mettre en évidence de coût physiologique associé à cette résistance. La fréquence d'apparition (c'est-à-dire probablement de sélection de mutants préexistants par la pression exercée par le toxique) des mutants résistants est comparable à celle généralement admise pour les bactéries pathogènes face aux antibiotiques, de l'ordre de 10^{-6} . Concrètement, cela veut dire qu'il est hautement probable que de tels mutants existent naturellement dans le milieu et qu'une pollution conduise à leur sélection.

◆ Souches mères 148-4 ◇ souches mutantes 148 -4
 ▲ souches mères 148-5 △ souches mutantes 148 -5
 ■ Souches mères 150-1 ▣ Souches mutantes 150 -1

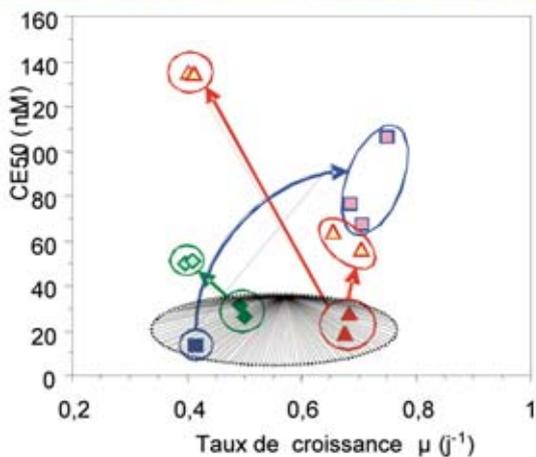


Figure 2. Illustration de l'apparition de mutants dans des cultures « sauvages » de chlorelles (symboles pleins, entourés de pointillés isolées de milieux non contaminés, sous l'effet de la sélection par une triazine (Irgarol 1051). La mutation, illustrée par les flèches se traduit par une augmentation de la tolérance au toxique (flèches vers le haut) et n'a pas d'effet prédictible sur la valeur sélective (ici le taux de croissance en milieu artificiel, augmenté, diminué, ou inchangé après mutation).

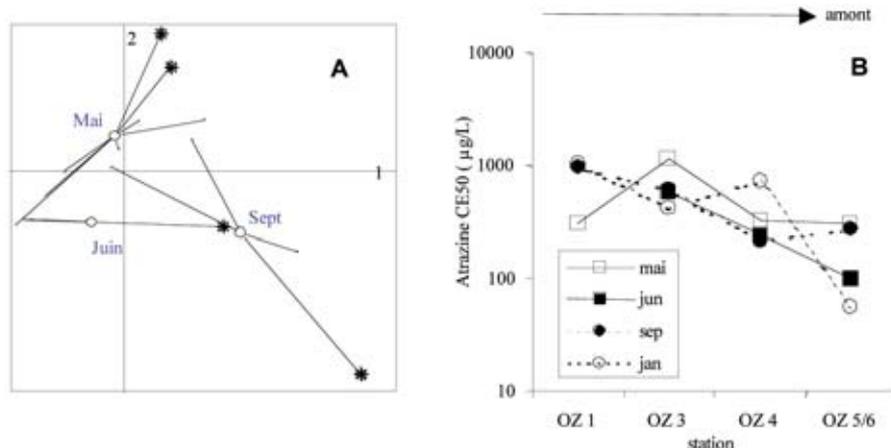
- Sur des communautés naturelles, nous avons appliqué divers outils d'estimation de la richesse, de l'abondance et de la diversité taxinomique des microalgues (microscopie classique, HPLC sur pigments, DGGE...). Ceci a permis de mettre en évidence des changements de structure et de composition des communautés, en milieu lentique ou lotique, et de relier ces changements de structure aux pressions de pollution supposées ou réelles.

- Sur un bassin versant exempt de pression de pollution due aux pesticides, nous avons montré que les communautés étaient diversement sensibles à l'ajout de pesticides modèles, mais que la variabilité était beaucoup plus liée à la saison de l'expérience

qu'au site d'échantillonnage et à son niveau trophique. Cela permettait a contrario de supposer que des facteurs de confusions comme la richesse en sels nutritifs et le niveau d'exposition au soleil n'étaient pas à même de perturber l'analyse des résultats obtenus sur les milieux pollués.

- Sur un bassin versant à forte pression agricole, nous avons montré qu'il existait un gradient amont-aval de diversité et de structure des communautés de microalgues, ainsi qu'un gradient de sensibilité, liés selon toute vraisemblance au gradient de pollution détecté dans l'eau de la rivière (Fig. 3). Il s'agit donc d'une illustration *in situ* du PICT et de son application en collaboration avec les gestionnaires (Agence de l'Eau Loire-Bretagne).

Figure 3. A. Différences de composition des communautés de microalgues périphytiques en



fonction du gradient de pollution (une analyse factorielle des correspondances, effectuée sur les profils DGGE de l'ARNr 18S, permet de montrer que les sites non pollués sont différenciés - étoiles). Il existe par ailleurs un gradient de sensibilité croissante aval - amont (B) des mêmes communautés.

Dans un lac très peu touché par les pollutions de type agricole (le Léman) nous avons montré que des sources ponctuelles de pollution triazinique (en l'occurrence les ports de Thonon et Lausanne) généraient localement une apparition de communautés phytoplanctoniques sélectionnées, et moins sensibles à l'ajout des mêmes triazines lors des tests à court terme. C'est une seconde illustration de l'applicabilité du PICT.

Nous espérons avoir démontré que, au delà de l'utilisation de ces organismes comme simple modèles de laboratoire ou de l'utilisation d'indices de diversité des communautés naturelles, les microalgues pouvaient être considérées comme des indicateurs pertinents des pressions de pollution par les pesticides.

Si l'on dispose d'un site de référence non pollué, il est possible à partir de l'analyse de la structure et de la diversité des communautés, ainsi que leur sensibilité aux sur-contaminations lors de tests écotoxicologiques, de montrer s'il existe une pression de sélection due à une contamination du milieu par les pesticides. Ce type d'approche peut venir en complément des suivis de contamination des eaux de surfaces, effectués de façon ponctuelle avec les méthodes de chimie analytique, et l'utilisation des indices de qualité normalisés.

Initialement réalisé sur des modèles de pesticides en interaction avec des communautés planctoniques et périphytiques, ce programme a fourni des méthodologies transposables à d'autres situations. Nous avons par exemple pu utiliser les méthodes et les savoir-faire acquis dans ce programme sur des communautés de microalgues terrestres (Bérard *et al.*, 2004), dans des systèmes expérimentaux soumis à des lixiviats industriels (thèse de L. Volatier, ENTPE-INSA Vaulx-en-Velin-Lyon, 2004) ou encore sur d'autres communautés benthiques (épipsammon, Saint-Olive *et al.*, 2001) avec le même succès. Pour le gestionnaire, il est donc intéressant de disposer de tels outils permettant de démontrer l'impact réel d'une pollution

par un ou plusieurs pesticides, et dans le cadre de scénarios de pollutions variés à travers un bassin versant. Le PICT est un véritable outil d'évaluation écotoxicologique, dans le sens où il possède également une signification écologique importante. Il intègre à la fois la variabilité de la communauté de microalgues (ou autres organismes) dans son ensemble, les phénomènes d'adaptation physiologique des organismes, et les sélections intra- ou interspécifiques. Lors d'une étude antérieure à ce programme, nous avons montré que le PICT pouvait aboutir à des end-point pertinents dans le cadre d'études en cosmes (mésocosmes et microcosmes) dédiées à l'évaluation du risque écotoxicologique. Le PICT est donc un outil qui peut se voir appliqué à l'évaluation d'impacts de pesticides non seulement en *a posteriori* mais aussi en *a priori*.

PARTENAIRES

Au cours du déroulement de ce projet, et grâce au financement assuré par le MEDD qui nous a donné une autonomie appréciable, nous avons pu développer des collaborations fructueuses avec divers organismes de recherche ou de gestion. Une étude sur la rivière Ozanne s'est faite en collaboration avec l'**Agence de l'Eau Loire-Bretagne** jusqu'en 2001 et des analyses supplémentaires sur les échantillons collectés ont pu être menées; un échange de savoir faire et un travail sur échantillons communs a été entrepris avec le **Centre de recherche public Gabriel Lippmann du Luxembourg**, et avec l'**Université de Kiev**, sur des modèles d'algues terrestres et benthiques ; nous avons très efficacement collaboré avec l'**Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (GECOS-ECOTOX)** sur le Léman ; nous avons développé l'utilisation d'outils cosmes de laboratoire avec le **Cemagref** de Lyon et l'**ENTPE** de Vaulx-en-Velin ; en collaboration avec l'**UMR 1229 Microbiologie et Géochimie des Sols, INRA/CMSE INRA/Université de Bourgogne de Dijon** nous avons finalisé des techniques d'extraction d'ADN d'algues et d'amplification PCR ; avec la **Fondation de la Tour du Valat** nous avons pu avoir accès à des rizières de type biologique en zones protégées.

PUBLICATIONS ET VALORISATIONS

Publications scientifiques

- Bérard A., Dorigo U., Mercier I., Becker-van Slooten K., Grandjean D. & Leboulanger C. (2003). Compared ecotoxicological impact of the two triazines Irgarol 1051 and atrazine to microalgal communities of Lake Geneva. *Chemosphere*, 53, 935-944.
- Bérard A., Rimet F., Capowiez Y. & Leboulanger C. (2004) First developments of indigenous soil algal assay procedures for monitoring sensitivity to pesticides. *Archives of Environmental and Contamination and Toxicology*. 46, 24-31.
- Bérard A., Dorigo U., Humbert J.F & Martin F. (2005) Microalgae community structure analysis based on 18S rDNA amplification from DNA extracted directly from soil as a potential soil bioindicator. *Agronomie*, 25, 1-7.
- Dorigo U., Bérard A. & Humbert J.F. (2002) Comparison of eukaryotic phyto-benthic community composition in a polluted river by partial 18S rRNA gene cloning and sequencing. *Microbial Ecology*. 44, 372-380.
- 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. *The Science of the Total Environment*, 318, 101-114.

Conférences et posters principaux, périodiques

- Bérard, A., Saint Olive A. & Leboulanger C., (2001) L'activité potentielle photosynthétique d'un sol, indicatrice de la sensibilité des communautés algales telluriques à l'atrazine. *Bulletin du Groupe Francophone Humidité et Transferts en Milieux Poreux*, 47 : 189-194.
- Bérard A., Dorigo U., Humbert J.F., Bourrain X., Cauzzi N., Druart J.C. & Leboulanger C

(2001) 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. XXXIe Congrès du Groupe français des Pesticides, Lyon, 15-17 mai 2001

- Bérard A., Rimet F. & Leboulanger C. (2002) Les microalgues édaphiques, des outils d'évaluation de la qualité des sols. Forum « qualité des sols » MATE, Paris, 15-16 mai 2002.
- Bérard A., Dorigo U., Humbert J.F & Martin-Laurent F. (2003) Utilisation des communautés de microalgues telluriques comme bioindicateurs potentiels de contamination des sols. Méthodologie d'extraction et d'amplification de l'ADNr des algues. XXXIIIe Congrès du GFP, Aix en Provence 17-18 mai 2003
- Bouchez A., Villeneuve A. & Leboulanger C. (2005) Apparition de clones de microalgues résistants sous l'effet d'un herbicide. Caractérisation et coût de la résistance, Colloque d'Ecologie Microbienne, Obernai, France, 9-12 mai 2005
- Leboulanger C., Le Bihan F., Dorigo U. & Bérard A. (2002) Réactions des microalgues planctoniques aux gradients de pollution : le cas des additifs anti-fouling dans le Léman. Poster au 2^e colloque GMRE / XXXIIe congrès du GFP, Marrakech, Faculté de Médecine, Maroc, 29-31 mai 2002
- Leboulanger C. (2003) Use of freshwater microalgae in ecotoxicological studies. Conférencier invité au 3rd European Phycological Congress, Belfast, Queen's University, Ulster, 21-26 juillet 2003
- Leboulanger C., Villeneuve A., Bouchez A. & Humbert J.F. (2004) Effects of Irgarol 1051 on the growth of several *Chlorella* strains, selection of resistant mutants, cost of resistance, and consequences for microalgal communities responses to pollution. Poster au 14th Annual Meeting SETAC Europe, Prague, Rép. Tchèque, 18-22 avril 2004
- Saint Olive A., Cauzzi N., Leboulanger C. & Bérard A. (2001). Utilisation des communautés de microalgues telluriques comme bioindicateurs potentiels de contamination des sols. Premiers essais sur l'extraction des algues, la mesure de l'activité photosynthétique d'un sol et de sa sensibilité à l'atrazine. XXXe Congrès du GFP, Lyon : 15-17 mai 2001

Rapports de stages liés au programme

- Dorigo U. (2001) Methodologies to study the effects of pesticides on freshwater microphytobenthos. " Tesie di Laurea" de l'Université de Padoue, Italie
- Le Bihan F. (2001) Impact de l'Irgarol et du cuivre utilisés dans les peintures anti-fouling des bateaux sur les communautés phytoplanctoniques du Léman. DESS "Gestion des ressources naturelles renouvelable" U.CO. Angers, 48 pp. + annexes
- Saint Olive A. (2001) Mise au point et application de tests physiologiques pour évaluer la tolérance de communautés algales prélevées dans leur milieu. D.U. U.C.L.B. 61 pp. + annexes

(UD, FLB et ASO ont participé aux travaux préalables à la mise en place de ce programme)

- Pernot M. (2002) Impact du chlorure sur les organismes aquatiques du lac Léman. Travail pratique de Diplôme EPFL, Lausanne 69 pp. + annexes.
- Jacquier T. (2003) Sensibilité de diverses espèces phytoplanctoniques à des pesticides employés en riziculture. IUT de Colmar
- Bonifacio S. (2003) Utilisation des signatures pigmentaires pour le suivi de la dynamique des microalgues sous l'effet de xénobiotiques. BTS Biochimie Thonon les Bains
- Enachit M. (2003) Protocoles pour la mesure du stress chez les microalgues: développements méthodologiques, utilisation des enzymes estérases. BTS Biochimie Thonon les Bains
- Marzin Caroline (2003) Etude de l'hétérogénéité spatiale et temporelle de la sensibilité du phytoplancton à des polluants d'origine agricole. 2^e année Ingénieur ISIM, Montpellier.

30 pp. + annexes

- Villeneuve Aurélie (2004) Apparition de mutants résistants à l'Irgarol 1051 dans des clones de microalgues isolés de divers milieux. IUP Génie Environnement, Metz, 55 pp.

Publications issues des travaux préalables à la mise en place du projet

- Bérard A Dorigo U., Humbert J.F., Leboulanger C & Seguin F. (2002). La méthode PICT (Pollution-Induced Community Tolerance) appliquée aux communautés algales. Intérêt comme outil de diagnose et d'évaluation du risque écotoxicologique en milieu aquatique. *Annales de Limnologie* 38, 247-261.
- Dorigo U. & Leboulanger C. (2001) A pulse-amplitude modulated fluorescence-based method to assess photosystem II herbicides effects on freshwater periphyton. *Journal of Applied Phycology*, 13, 509-515.



APR 2002

IMPACT DES PESTICIDES SUR L'ENVIRONNEMENT MARIN : IPEM

COORDINATEUR SCIENTIFIQUE :

Gaëli DURAND

Pôle Analytique des
Eaux (PAE)
Conseil et Expertise en
Environnement

120 avenue Alexis de
Rochon, B.P.52
29 280 Plouzané

Tel. 02 98 34 11 02
Fax. 02 98 34 11 01
gael.durand@pae-brest.fr

RÉSUMÉ DU PROJET DE RECHERCHE

De nombreux pesticides sont détectés dans le milieu marin côtier. Leur impact sur le phytoplancton, premier maillon de l'ensemble de la chaîne alimentaire marine, est mal connu. Toutefois, des travaux suggèrent que l'apport de pesticides constituerait un facteur potentiel de sélection d'espèces, dont certaines nuisibles, augmentant ainsi leur proportion dans la communauté phytoplanctonique.

Le projet se propose d'étudier l'impact des pesticides sur le phytoplancton, de l'échelle intracellulaire à l'échelle de la communauté naturelle en milieu pollué et non pollué. Pour cela il s'appuie sur la culture de souches pures et de communautés en mésocosmes, sur l'analyse cellulaire et intracellulaire (transcriptome, pigments, ATP, microscopie) et sur les techniques d'analyses des communautés (empreinte génétique des populations, activité photosynthétique, cytométrie de flux). Ce projet développe un volet particulier sur les espèces tolérantes présentant un risque sanitaire et économique.

Les pesticides étudiés seront le nicosulfuron, la sulcotrione, la diméthénamide, la bentazone, l'époxiconazole et le chlorpyrifos-éthyl. Ils seront analysés dans le milieu sur les 4 sites choisis, et dans les milieux de culture pour vérifier la concentration exacte d'exposition du phytoplancton.

MOTS CLÉS

Pesticides, environnement, phytoplancton, PNEC, ISO, mésocosme, PICT, ATP, biologie moléculaire.

SITES CHOISIS

- **Site retenu pour l'étude en mésocosme :**

D'après les résultats préliminaires obtenus, le mésocosme reste "comparable" à la communauté naturelle environnante, lorsqu'il est immergé à quelques mètres. Le site doit donc permettre une immersion suffisante, un accès facile, une protection contre la houle du large, et doit se situer en zone non polluée. Le site se situe au nord de l'île Saint Nicolas de Glénan.

- **Sites et cas retenus pour l'évaluation PICT :**

La Rade de Brest et la Baie de Morlaix faisant l'objet de suivis, des déterminations et des concentrations de pesticides (PAE, Brest), dans l'eau de mer, une étude comparative sera menée sur quatre sites :

- **un site de référence : non impacté : Le site sélectionné pour l'étude en mésocosme.**

- **trois sites pollués :**

1) dans la Rivière de Penzé à des salinités comprises entre 24 et 28 ‰ (salinités favorables au développement d'*A. minutum*). Cette rivière est influencée par les apports agricoles du bassin versant, et se déverse à proximité d'une zone conchylicole d'importance économique, directement exposée à l'algue toxique.

2) en Rade de Brest face à l'embouchure de l'Aulne, où la flore totale phytoplanctonique est suivie régulièrement. La Rade de Brest est également influencée par les eaux de ruissellement des bassins versants de l'Elorn, à fortes activités agricoles, industrielles et urbaines. Des analyses de pesticides sont effectuées régulièrement et depuis 1993, dans le cadre du Contrat de baie de la rade de Brest

3) en estuaire du Bélon qui est une rivière qui subit une forte dessalure (apports du bassin versant), qui abrite une zone conchylicole d'importance économique et où régulièrement il y a développement de *Dinophysis*.



L'étude sera effectuée au moment du développement phytoplanctonique lorsque la concentration d'alerte en chlorophylle *a* atteindra 2 mg/m³ sur les sites impactés. Le site de référence sera étudié dès l'apparition des populations printanières, dont le suivi se fera en relation avec le réseau de surveillance REPHY.

PARMI LES NOMBREUX PESTICIDES EXISTANTS, ONT ÉTÉ RETENUS

- Quatre herbicides : le **nicosulfuron** (inhibe l'acétolactate synthétase, utile pour les acides aminés ramifiés : valine, leucine, isoleucine), la **sulcotrione** (inhibe la 4-hydroxyphénol pyruvate dioxygénase : synthèse des caroténoïdes), le **diméthénamide** (inhibe des élongases et des enzymes de cyclisation conduisant aux gibbéréllines), la **bentazone** (inhibe la photosynthèse par blocage de la protéine D1 du photosystème II)
- Un fongicide : l'**époconazole** (agit au niveau de la synthèse des stérols)
- Un insecticide : le **chlorpyrifos-éthyl**, (agit au niveau de la transmission axonale par ouverture du canal sodium, hautement bioaccumulable).

Les produits de dégradation de ces composés seront recherchés lorsqu'ils sont connus et commercialisés en étalons.

RÉALISATIONS (FIN 2004)

Les concentrations de pesticides sont mesurées dans le milieu naturel, sur les sites des expérimentations, et les valeurs trouvées sont utilisées dans les études sur les populations, la physiologie et la génétique des espèces tolérantes. Les différents tests effectués sont vérifiés par l'analyse, pour mettre en évidence les concentrations réelles, ayant des effets (ou non).

Tests en laboratoire sur cultures monospécifiques de phytoplancton, afin de déterminer les caractéristiques écotoxicologiques des pesticides

Les bioessais ont été réalisés avec :

- Pesticides testés purs :

Bentazone (Sigma-Pestanal, référence 45 341)

Nicosulfuron (Promochem, référence C15515000)

- Pesticides testés en formulations commerciales :

Basamaïs (Société : BASF AGRO SAS, bentazone : 480 g L⁻¹).

Milagro (Société : ISK Bioscience, Nicosulfuron : 40 g L⁻¹).

L'activité des pesticides peut-être classée en 3 catégories selon les CE50 déterminées au cours des bioessais :

- 1-** activité non détectée dans la gamme des doses testées :
bentazone sur *Alexandrium minutum* cultivé en milieu Penzé (0-100 mg L⁻¹),
nicosulfuron sur *Chaetoceros gracilis* et *A. minutum* en milieu post-hivernal (0-10 mg L⁻¹) et sur *A. minutum* en milieu estival (0-10 mg L⁻¹),
- 2-** activité moyenne avec CE50 calculée en mg L⁻¹ :
bentazone sur *C. gracilis* et *A. minutum* cultivés en milieu post-hivernal et estival
Basamaïs sur *A. minutum* cultivé en milieu Penzé
- 3-** activité forte avec CE50 calculée inférieure à 1 mg L⁻¹ :
Basamaïs sur *A. minutum* en milieu post-hivernal,
Milagro sur *A. minutum* en milieux estival, post-hivernal et Penzé

Rappel : CE50 calculée = concentration de la substance à expérimenter qui entraîne une diminution de 50 % de la croissance par rapport aux solutions témoins

Etude des communautés en sites pollués : Modifications de production primaire au niveau des communautés phytoplanctoniques naturelles impactées par les pesticides

Parmi les effets observés chez les populations phytoplanctoniques naturelles soumises à la présence de contaminants chimiques, les modifications dans la vitesse de production primaire peuvent constituer un indicateur de cet impact. L'effet toxique des contaminants se traduit de façon classique par une diminution de la production, d'autant plus forte que le contaminant est concentré, et les espèces sensibles. Les assemblages naturels de populations algales, adaptées à l'apport chronique de contaminants présentent une tolérance qui peut apparaître au niveau d'une production primaire peu ou pas affectée, en présence de contaminants à des concentrations toxiques pour des populations inadaptées. Au cours de cette première partie du projet, deux sites ont été testés : la rivière de Penzé, la rivière Elorn, tous deux connus pour recevoir des effluents de zones agricoles.

Résultats en estuaire de Penzé

Le prélèvement en Penzé (BM+3 à coefficient 80) en conditions printanières présente une situation propre au site, particulièrement riche en sels nutritifs (91 µM N; 0,19 µM P). La biomasse chlorophyllienne moyenne des différentes fractions testées est d'environ 2 µg L⁻¹. La population phytoplanctonique est composée à 56 % de dinoflagellés (soit 62 665 cell L⁻¹), dont 40 % sont représentés par *A. minutum*. Les diatomées présentes à 44 % (52 405 cell L⁻¹) sont représentées à 20 % par *Guinardia flaccida*.

Les effets des contaminants se traduisent tous par une élévation de la production primaire, dont l'effet croît avec la dose ajoutée dans de nombreux cas. L'exploitation des données dans le but de déterminer une CE50 comparée entre différents sites est impossible au travers de ces réponses.

Résultats en estuaire de l'Elorn

Le prélèvement en estuaire d'Elorn est réalisé en fin de période printanière à PM +3 et coefficient 58, et présente les caractéristiques nutritives d'un après-bloom printanier en zone côtière (7 µM N et 0,43 µM P). La chlorophylle phytoplanctonique du même ordre de grandeur qu'en Penzé (environ 2 µg L⁻¹) correspond à 97 % à des diatomées (206 650 cell L⁻¹).

La réponse des cellules phytoplanctoniques à l'apport des pesticides se traduit également par une accélération de la production primaire, encore plus marquée que dans le

prélèvement de Penzé. Cette différence peut être attribuée à la concentration cellulaire plus élevée, ainsi qu'à la proportion plus grande en diatomées en estuaire de l'Elorn.

En conclusion provisoire à cette partie de notre étude, il apparaît nécessaire de prévoir une adaptation de la méthode pour déterminer le degré d'impact des pesticides sur les populations phytoplanctoniques. En considérant les résultats obtenus en cultures monospécifiques, les diatomées.

Etude en mésocosme *in situ* de communautés faiblement exposées : Etude des modifications physiologiques provoquées par la présence des pesticides.

Les structures ont été fabriquées durant l'hiver 2003-2004 (voir photo), et mises en place durant le mois de mai 2004. Elles se positionnent à une distance constante de la surface, suspendues à une bouée de surface, elle-même amarrée au fond par une chaîne sur un corps mort en béton de 500 kg.

Les tests d'utilisation des structures ont pu être réalisés durant le mois de juin. Chaque structure est remontée en surface, basculée afin que la roue soit en position verticale, puis posée sur la proue du bateau. Les bouteilles peuvent ainsi être aisément installées ou retirées de la structure, en faisant progressivement tourner la roue autour de la proue. De l'eau de mer contenant l'ensemble de la communauté phytoplanctonique est filtrée sur tamis de 225 µm, et disposée en bouteilles de 2 litres, immergées sur la structure-support, à 4 mètres de profondeur. Tous les deux à quatre jours, des prélèvements sont effectués, et une part de l'eau de mer est renouvelée (5 % par jour). Les mésocosmes sont suivis durant 14 jours. Chaque mésocosme est répété dans 16 bouteilles, afin de prélever 4 bouteilles pour analyse tous les 3 à 4 jours. Les structures peuvent supporter 36 bouteilles (12 témoins, 2*12 exposées aux pesticides). Chacun des 6 composés retenus, ainsi que le mélange des 6, est testé à la concentration maximale retrouvée en site pollué, à 3 reprises au cours de la période avril-septembre.

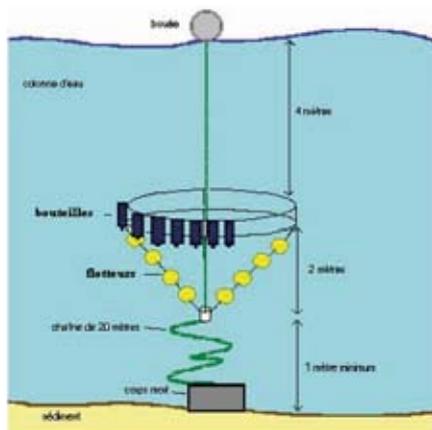


Schéma et photo de la structure immergée

La première série de tests a eu lieu du 7 au 21 juin 2004. La deuxième série de tests a duré du 29 juin au 13 juillet 2004 ; la troisième, démarrée le 06 août n'a pu être menée à son terme du fait de conditions météorologiques (vent et houle) ne permettant pas d'assurer la sécurité de l'équipe. Une quatrième série a été menée du 8 au 26 septembre. Seules les séries 1, 2 et 4 ont pu être récupérées et traitées.

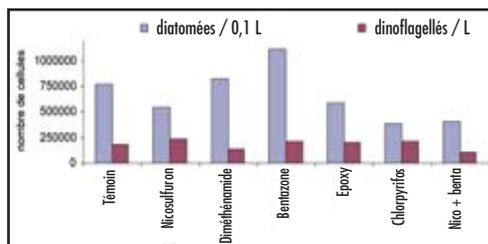
L'évolution de la communauté est suivie par analyse des pigments par HPLC (High Pressure Liquid Chromatography) et empreinte génétique de la communauté par TTGE (Temporal Temperature gradient gel electrophoresis).

Pour la saison 2005 seront ajoutées des observations microscopiques des échantillons mésocosmes ainsi qu'un suivi de la teneur du milieu en chlorophylle a.

Les prélèvements sont filtrés et les filtres conservés dans l'azote liquide pour l'analyse des pigments et de l'empreinte génétique de la communauté.

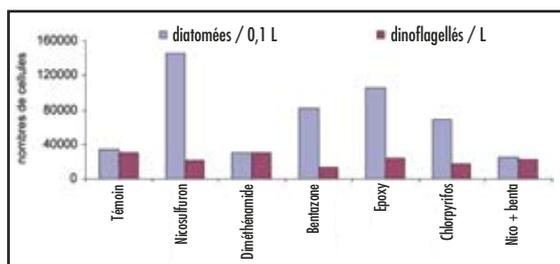
Des aliquots sont également conservés dans l'azote liquide, après ajout de 0,25% de glutaraldéhyde pour analyse en cytométrie de flux. Les analyses sont en cours.

EVALUATION DU DEGRÉ D'IMPACT DES PESTICIDES SUR DES POPULATIONS PHYTOPLANCTONIQUES EN SITES SENSIBLES

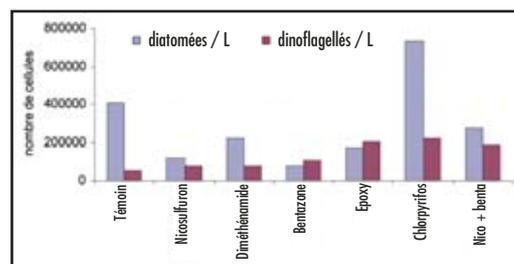


Composition des populations phytoplanctoniques en Penzé après 7 jours de traitements

Les populations phytoplanctoniques sont affectées par les pesticides (100 ng/L) à des degrés divers, selon les espèces algales, la nature chimique des produits et le site. D'une façon générale les diatomées restent prédominantes mais en estuaire d'Elorn l'apport de bentazone et d'époxiconazole favorise les dinoflagellés aux dépens des diatomées.



Variation de la composition de la population naturelle aux îles Glénan après 3 jours de traitement



Composition des populations phytoplanctoniques d'Elorn après 9 jours de traitement

PARTENAIRES

- IFREMER Brest, DEL, B.P. 70, 29 280 Plouzané Cedex
- Université de Bretagne Occidentale -UBO, Laboratoire de biotechnologie et physiologie végétales (BPV), 6 Avenue Victor Le Gorgeu, B.P. 809, 29 285 Brest Cedex
- Université de Bretagne Occidentale -UBO, LUMAQ, Pôle Universitaire P.J. Helias, 29 000 Quimper Cedex

PUBLICATIONS ET VALORISATIONS

Présentations à des congrès

- Congrès SETAC Europe 14th Annual Meeting, Prague (République Tchèque), 14-21 avril 2004

Poster: Influence of nutrients on the phytotoxicity of bentazone in pure solution and formulation, to marine phytoplankton. (Article en cours de préparation)

- 21e Forum des jeunes océanographes - 1er Forum européen des jeunes océanographes, 06230 Villefranche/mer, 13-14 mai 2004.

Poster: Effet des pesticides sur la taille cellulaire du phytoplancton marin. (Article en cours)
Charlotte Laisné a été **lauréate du prix** accordé par l'UOF lors du 21e Forum des jeunes océanographes, pour son poster "Effet des pesticides sur la taille cellulaire du phytoplancton marin".

- Congrès de Bordeaux : 9th FECS Conference on Chemistry and the Environment and 2nd SFC Meeting on Environmental Chemistry Behaviour of Chemicals in the Environment, Bordeaux, France, 2004 August 29th - September 1st.

Poster: Effects of two herbicides, bentazone and nicosulfuron, on a marine diatom : *Chaetoceros gracilis*.

Poster: Compared effects of two pesticides , bentazone and epoxiconazole, on two trophic levels : the algae *Isochrysis galbana* and the Japanese oyster *Crassostrea gigas*.

- Congrès à Cancun, Mexique, ISME 10, 23 août 2004

Poster: an immersed *in situ* mesocosm as a tool for the assessment of pollution impact on *Synechococcus*

Publications

- Hourmant A., Patrick P., Arzul G., Gaël Durand, Hureau D., Robic A., Videau C., Quiniou F., De La Broise D., Influence of nutrients on the phytotoxicity of bentazone in pure solution and formulation, to marine phytoplankton. (*en cours*)
- Laisné C., Lassus M.** , Arzul G., Quiniou F., Hureau D. et Durand G.* , Effet des pesticides sur la taille cellulaire du phytoplancton marin. (*en cours*)
- Arzul G., Quiniou F., Videau C., Malestroit P., Modification expérimentale de la biodiversité phytoplanctonique côtière par les polluants organiques. (*Experimental modification in coastal marine biodiversity by organic pollutants input*) (*Article en cours de correction pour la revue électronique Vertigo publiée par les Éditions des sciences en environnement (2669 Knox, Montréal, Québec H3K 1R3, Canada)*).



APR 2002

CHANGEMENTS D'ÉCHELLE ET ÉVALUATION DU RISQUE ÉCOTOXICOLOGIE DE MÉLANGES ENTRE SUBSTANCES ACTIVES HERBICIDES ET ADJUVANT (CEREMEL)

COORDINATEUR SCIENTIFIQUE :

Laurent LAGADIC

UMR 985 INRA
Agrocampus
Écobiologie et Qualité
des Hydrosystèmes
Continents
Équipe Écotoxicologie
et Qualité des Milieux
aquatiques

65 rue de Saint-Brieuc
CS 84215
35042 Rennes cedex

Tél. 02 23 48 52 37
Laurent.Lagadic@rennes.inra.fr

OBJECTIF GÉNÉRAL ET FINALITÉS

L'objectif général du projet de recherche est de caractériser les éléments individuels et populationnels précoces de la réponse d'animaux aquatiques à l'exposition à des mélanges extemporanés entre un herbicide et un adjuvant. Les études porteront sur deux espèces, un mollusque gastéropode, *Lymnaea stagnalis* (lymnée des étangs) et un poisson téléostéen, *Gasterosteus aculeatus* (épinoche), considérées comme de bons modèles biologiques pour les investigations sur les effets des xénobiotiques sur diverses fonctions physiologiques (reproduction, croissance, comportement).

Les herbicides choisis sont le fomesafen (famille des diphényl-éthers) et le diquat (famille des bipyridyles) dont l'emploi en agriculture requiert l'association avec un adjuvant à base de nonylphénols polyéthoxylés, l'Agral® 90.

Les enjeux finalisés sont de deux types :

- L'acquisition de connaissances sur les effets des xénobiotiques chez les animaux aquatiques a pour principale finalité le développement d'outils de diagnostic, et éventuellement de prévision, des effets biologiques utilisables pour l'évaluation du risque écotoxicologique (démarche *a priori*). Il s'agit en premier lieu de définir des méthodes et d'acquérir des savoir-faire permettant le développement et l'utilisation, dans différents contextes expérimentaux (bioessais de laboratoire, tests en microcosmes), de biomarqueurs et de traits d'histoire de vie (THV) pour l'évaluation des effets des pesticides.
- En ce qui concerne l'étude de mélanges herbicide-adjuvant, il s'agit non seulement d'analyser l'influence de l'adjuvant sur la toxicité de la matière active, mais également d'identifier la nature des interactions entre les deux types de composés. Les effets de ce type de mélange sont très peu étudiés alors que c'est exclusivement sous cette forme que les pesticides sont introduits dans l'environnement. Les mélanges fomesafen-Agral® 90 et diquat-Agral® 90 représentent des exemples types de mélanges de xénobiotiques susceptibles de contaminer les milieux aquatiques dans des situations réelles d'emploi en agriculture.

À terme, les possibilités d'application des résultats du programme de recherche à des décisions de gestion sont principalement de deux types :

- consolider la démarche d'évaluation du risque *a priori* en confrontant les résultats des bioessais monospécifiques à ceux obtenus dans des systèmes biologiques intégrés (microcosmes et mésocosmes) permettant les interactions entre organismes ;
- proposer des outils biologiques complémentaires (biomarqueurs, THV) pour l'évaluation diagnostique et pronostique des risques écotoxicologiques des mélanges pesticides-adjuvants en milieu aquatique.

JUSTIFICATIONS DU PROGRAMME DE RECHERCHE

Situation actuelle de la problématique

L'exposition *in situ* des organismes aquatiques à des mélanges de produits chimiques utilisés en agriculture est une réalité avérée, comme le montrent les données sur la contamination des milieux aquatiques au niveau national (1) et diverses observations de terrain (2,3). Ces mélanges sont constitués de composés parents (substances actives et adjuvants de formulation), de produits de transformation ou de réaction, de résidus et de matériaux inertes. Or, comme le souligne le rapport "Risques sanitaires liés à l'utilisation des produits phytosanitaires" du Comité de la Prévention et de la Précaution (4), il existe très peu de données sur les effets toxiques et écotoxiques de ces mélanges, ainsi que sur ceux des co-formulants et adjuvants des pesticides (5). En particulier, les connaissances sur les effets propres de certains adjuvants de formulation et sur leur interaction avec la toxicité des matières actives sont fragmentaires et ne permettent pas de statuer avec certitude sur le risque que présentent ces substances pour l'environnement, en particulier lorsqu'il s'agit de mélanges extemporanés, comme c'est précisément le cas pour l'Agral® 90 et toutes les substances actives avec lesquelles il est utilisé.

Effets toxiques et écotoxiques des mélanges

Le rapport du C.PP (4) note qu'effectivement l'un des problèmes sur lesquels bute l'évaluation des risques basée sur des données toxicologiques est l'absence d'études sur les mélanges de substances toxiques dont les effets sont considérés, par défaut, comme additifs, sans qu'il soit vérifié que c'est toujours le cas. Une approche réaliste de l'évaluation du risque associé à l'exposition aux produits phytosanitaires doit considérer les conséquences d'expositions combinées, car de telles expositions – simultanées ou séquentielles – pourraient conduire à des effets quantitativement et/ou qualitativement différents des effets attendus en ne considérant que l'additivité des réponses générées par les produits pris isolément. En effet, l'exposition à des combinaisons de substances se traduit parfois par une toxicité significativement plus élevée (potentialisation ou synergie) ou au contraire plus faible (antagonisme) que la simple somme des réponses induites par les composants du mélange pris individuellement (6).

La mise en évidence d'interactions toxiques dans les mélanges devrait constituer un aspect important du processus global de l'évaluation du risque des produits chimiques utilisés en agriculture. Or, c'est une étape critique de la procédure d'évaluation car les experts réglementaires manquent le plus souvent d'informations fiables sur la caractérisation quantitative des interactions entre les molécules qui entrent dans la composition des mélanges.

Dans la plupart des cas, le critère d'effet est la mort des organismes exposés. Il existe très peu de données sur les effets des mélanges de pesticides à des concentrations sublétales et/ou sur des biomarqueurs susceptibles de renseigner sur l'état de santé des individus (7-9), et le niveau populationnel n'est pas pris en compte dans ces études. Par ailleurs, très peu d'études ont abordé les effets de mélanges entre substances actives et adjuvants sur les populations et communautés d'organismes aquatiques (10,11).

Importance du contexte expérimental pour l'évaluation du risque écotoxicologique

Les tests de toxicité monospécifiques constituent la base de l'évaluation du risque écotoxicologique pour les pesticides. Réalisés dans les conditions simplifiées du laboratoire, ils ne permettent le plus souvent que d'évaluer certains effets directs des molécules testées, notamment la mortalité. Désormais, les procédures d'évaluation du risque écotoxicologique impliquent dans certains cas le recours à des dispositifs plus complexes tels que des microcosmes ou des mésocosmes (12-14). Ces systèmes intégrés fournissent des informations pertinentes pour l'évaluation du devenir et des effets, directs et indirects, des pesticides dans les milieux aquatiques. Les microcosmes de laboratoire ("indoor microcosms") présentent un degré de complexité biologique compatible avec l'étude de

processus déterminant à l'échelle de la population (reproduction par exemple) ou de la communauté (herbivorie, relations prédateurs-proies, etc.). Les effets au niveau populationnel observés dans ces systèmes peuvent être très différents de ceux déterminés lors des tests réalisés sur des lots d'individus (15) ou se produire pour des concentrations très nettement inférieures (plusieurs ordres de grandeur) aux concentrations létales pour les espèces étudiées (16). En outre, les microcosmes permettent de réaliser des manipulations expérimentales pour des durées plus longues que celle des bioessais classiques, tout en gardant des possibilités de contrôle, plus délicates à mettre en œuvre dans des systèmes expérimentaux plus complexes placés dans des conditions environnementales naturelles ("outdoor mesocosms"). Ainsi, la variabilité entre les microcosmes d'intérieur est généralement inférieure à celle observée dans des dispositifs extérieurs (17).

PRÉSENTATION DÉTAILLÉ DU PROGRAMME DE RECHERCHE

Le projet actuel s'inscrit dans la continuité des travaux réalisés dans le cadre du programme de recherche "Modifications structurales et fonctionnelles de communautés d'organismes aquatiques exposées à un mélange d'herbicide et d'adjuvant en mésocosmes lenticques" (Coordinateur : G. Lacroix) (APR 1999 du Programme "Pesticides"). Ces travaux ont porté, entre autres, sur les effets du fomesafen et du mélange fomesafen-Agral® 90 sur les communautés d'organismes aquatiques. Par rapport à cette étude en mésocosmes, le présent programme est motivé par la nécessité d'avoir recours à des systèmes expérimentaux moins complexes afin d'une part, d'étendre la démarche à d'autres mélanges herbicides-adjuvant et de multiplier le nombre de combinaisons possibles entre produits, et d'autre part, d'affiner la caractérisation des effets et la compréhension des mécanismes mis en jeu dans les réponses biologiques observées chez certains animaux aquatiques. Au final, la mise en commun de l'ensemble des résultats obtenus dans le cadre des deux programmes de recherche devrait permettre de disposer d'une évaluation approfondie du risque écotoxicologique de mélanges extemporanés entre l'Agral® 90 et des herbicides, basée sur la mise en œuvre de méthodologies complémentaires dans différentes conditions d'exposition (test monospécifiques, microcosmes de laboratoire, mésocosmes extérieurs).

Contextes expérimentaux

Le fait que la réponse biologique soit dépendante des conditions d'exposition n'est plus à démontrer ; en revanche, il n'est pas toujours possible de savoir si c'est la nature de la réponse, ou son amplitude, ou bien encore les deux, qui sont modifiées. Le projet permet de tester ces différentes hypothèses en comparant deux types de systèmes expérimentaux, de complexités biologiques différentes :

- *les essais monospécifiques*, qui mettent simplement en présence l'espèce-modèle (lymnée ou épinoche) et les produits testés, dans l'eau ; la contamination des organismes se fait alors directement à partir du milieu ;
- *les microcosmes*, qui représentent des systèmes complexes où les organismes peuvent interagir entre eux et avec le milieu physique, notamment les sédiments où peuvent par ailleurs se dérouler des processus de biodégradation des xénobiotiques ; dans ce contexte, les organismes sont soumis à de multiples voies de contamination, incluant la voie trophique.

Modalités d'exposition

Caractéristiques des produits utilisés – Les préparations commerciales FLEX Pack, comprenant 1 L de fomesafen (250 g/l) sous forme de sel de sodium et 0,6 L d'Agral® 90 (945 g/l de NPEOs), et Réglone 2 (200 g/l diquat dibromide) sont utilisées.

Choix des concentrations – Pour les bioessais, une gamme de concentrations croissantes en chacun des produits (fomesafen, diquat et Agral® 90) a été choisie ; pour les mélanges, le rapport des concentrations correspond à celui recommandé par le fabricant dans les conditions d'emploi de chacun des produits en agriculture, à savoir 2,25. Les gammes de

concentrations retenues sont donc 4,4, 22, 44, 222 et 444 µg/L pour le fomesafen et le diquat, et 10, 50, 100, 500 et 1000 µg/L pour l'Agral® 90. Chaque concentration est testée à raison de 3 à 4 réplicats. *En microcosmes*, du fait de la complexité des systèmes et pour des raisons de faisabilité, le nombre d'unités sera réduit : pour chacun des deux herbicides, une ou deux concentrations seulement seront testées, qui seront déduites des résultats des bioessais, le mélange adjuvant/herbicide se faisant toujours avec le ratio 2,25. Un scénario prenant en compte des expositions successives sera envisagé.

Durée d'exposition – Pour la plupart des expérimentations, la durée d'exposition sera comprise entre 2 et 30 jours. Les tests monospécifiques privilégieront les courtes durées d'exposition (2 à 7 jours), afin de caractériser les réponses précoces, tandis que les microcosmes permettront des études à plus long terme (21 à 30 jours).

Variables biologiques mesurées

La plupart des variables biologiques mesurées pour évaluer les effets des produits sont les mêmes chez les deux espèces étudiées (Tableau 1). Pour les individus exposés en microcosmes, seuls les paramètres biologiques ayant montré des patterns de réponses exploitables lors des tests monospécifiques seront mesurés. Par ailleurs, un certain nombre de paramètres (température, pH, concentration en oxygène dissous, conductivité, alcalinité, concentrations en nitrates, nitrites et ammonium, concentration en orthophosphates, abondance et biomasse des producteurs primaires micro- et macrophytiques) permettront de caractériser l'état des microcosmes et son évolution au cours de l'étude.

Les réponses des paramètres biologiques seront mises en relation avec les concentrations d'exposition en herbicides mesurées dans l'eau.

	Lymnée	Épinoche
Systèmes de défense		
	Monooxygénases à cytochrome P450	
	Glutathion S-transférases (GST)	
	Glutathion peroxydase (GPx)	
	Glutathion réduit / glutathion oxydé (GSH/GSSG)	
	Glutathion réductase (GR)	
	Catalase	
	Malonedialdéhyde	
		TBARs
	Structure et fragilité du système lysosomal	
	Activité phagocytaire des hémocytes	
	Apoptose des hémocytes	
Paramètres de régulation de la reproduction		
	Taux de stéroïdes sexuels (testostérone, estradiol)	
	Taux de glycogène	
	Activité glycogène-phosphorylase	
	Histologie de la gonade	
		Taux de vitellogénine plasmatique
Indicateurs d'état physiologique		
	Indice de condition	
	Indices hépato- et gonadosomatique	
Traits d'histoire de vie		
	Croissance	
	Fécondité	
	Taux de développement des embryons	
	Taux d'éclosion des œufs	

Tableau 1. Variables biologiques mesurées pour évaluer les effets des produits sur la lymnée (*L. stagnalis*) et l'épinoche (*G. aculeatus*)

ÉTAT D'AVANCEMENT DU PROGRAMME

A mi-parcours du programme, l'essentiel des tests monospécifiques a été réalisé. Le traitement des échantillons et l'analyse des données est en cours. Une réunion de l'ensemble des partenaires, qui a eu lieu le 02 Mars 2005, a permis de tirer un premier bilan des travaux réalisés. D'une manière générale, les tendances qui se dégagent des résultats actuellement exploités indiquent que :

- le fomesafen et le diquat agiraient sur les activités monoxygénases, en augmentant leur activité chez l'épinoche comme, dans une moindre mesure, chez la lymnée.
- le fomesafen et le diquat seraient à l'origine de l'induction d'un stress oxydant chez les deux espèces ; les effets des deux produits resteraient néanmoins modérés chez l'épinoche alors que chez la lymnée, le diquat se révélerait être un inducteur plus puissant que le fomesafen.
- l'Agral® 90 serait à l'origine d'un important stress oxydant chez l'épinoche alors que chez la lymnée, ce type d'effet n'a pas été observé. En revanche, chez la lymnée, des altérations du système lysosomal ont été mises en évidence.

chez les deux espèces, les effets du mélange semblent être plus qu'additifs.

La seconde phase du programme sera consacrée à :

- affiner les résultats des tests monospécifiques en complétant les mesures des variables biologiques et en procédant à l'analyse de l'ensemble des jeux de données ; il n'est pas exclu qu'il soit nécessaire de remettre en place des expositions, afin de confirmer certains résultats.
- réaliser les mesures des concentrations en herbicides dans l'eau, afin de connaître précisément les concentrations réelles d'exposition.
- mettre en œuvre l'étude en microcosmes, prévue pour Février 2006.
- développer et utiliser des méthodes mathématiques d'analyse des interactions entre les produits

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) IFEN, 2001, Les pesticides dans les eaux, Bilan des données 1998 et 1999 réalisé en 2000. Études et Travaux, n°34.
- (2) Kreuger, J., 1998. Pesticides in stream water within an agricultural catchment in southern Sweden, 1990-1996. *The Science of the Total Environment.*, 216: 227-251.
- (3) Liess, M., Schulz, R., Liess, M.H.-D., Rother, B. & Kreuzig, R., 1999. Determination of insecticide contamination in agricultural headwater streams. *Water Research.*, 33 : 239-247.
- (4) C.P.P. (Comité de la Prévention et de la Précaution), 2002. Risques Sanitaires liés à l'Utilisation des Produits Phytosanitaires. 52 p.
- (5) Haller, W.T. & Stocker, R.K., 2003. Toxicity of 19 adjuvants to juvenile *Lepomis macrochirus* (bluegill sunfish). *Environment Toxicology and Chemistry*, 22 : 615-619.
- (6) Marking, L.L., 1985. Toxicity of chemical mixtures. In: Rand G.M. & Petrocelli S.R. (eds), *Fundamentals of Aquatic Toxicology*. Hemisphere Washington D.C., 164-176.
- (7) Bocquené, G., Bellanger, C., Cadiou, Y. & Galgani, F., 1995. Joint action of combinations of pollutants on the acetylcholinesterase activity of several marine species. *Ecotoxicology*, 4, 266-279.
- (8) Forget, G., Pavillon, J.-F., Belaieff, B. & Bocquené, G., 1999. Joint action of pollutant combinations (pesticide and metals) on survival (LC50 values) and acetylcholinesterase activity of *Tigriopus brevicornis* (Copepoda, Harpacticoida). *Environment Toxicology and Chemistry*, 18 : 912-918.

- (9) Jin-Clark, Y., Lydy, M.J. & Zhu, K.Y., 2002. Effects of atrazine and cyanazine on chlorpyrifos toxicity in *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidae). *Environment Toxicology and Chemistry*, 21 : 598-603.
- (10) Jumel, A., Coutellec M.-A., Cravedi J.-P. & Lagadic, L., 2002. Nonylphenol polyethoxylate adjuvant mitigates the reproductive toxicity of fomesafen to the freshwater snail *Lymnaea stagnalis* in outdoor experimental ponds. *Environment Toxicology and Chemistry*, 21 : 1876-1888.
- (11) Caquet Th., Deydier-Stephan L., Lacroix G., Lescher-Moutoué F. & Le Rouzic B., 2005. Effects of fomesafen, alone and in combination with an adjuvant, on planktonic communities in freshwater outdoor pond mesocosms. *Environment Toxicology and Chemistry*, 24 : 1116-1124.
- (12) Campbell, P.J., Arnold, D., Brock, T., Grandy, N., Heger, W., Heimbach, F., Maund, S.J. & Strelake, M. (eds), 1999, *Guidance Document on Higher-tier Aquatic Risk Assessment for Pesticides*. (HARAP). SETAC-Europe Publications, Bruxelles.
- (13) Caquet, Th., Lagadic, L. & Sheffield, S.R., 2000. Mesocosms in ecotoxicology (1). Outdoor aquatic systems. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 165 : 1-38.
- (14) Giddings, J.M., Brock, T.C.M., Heger, W., Heimbach, F., Maund, S.J., Norman, S.M., Ratte, H.R., Schäfers, C. & Strelake, M., 2002. *Community-Level Aquatic System Studies – Interpretation Criteria (CLASSIC)*. SETAC Publications, Bruxelles.
- (15) Liess, M., 2002. Population response to toxicants is altered by intraspecific interaction. *Environment Toxicology and Chemistry*, 21 : 138-142.
- (16) Brust, K., Licht, O., Hultsch, V., Jungmann, D. & Nagel R., 2001. Effects of terbutryn on aufwuchs and *Lumbriculus variegatus* in artificial indoor streams. *Environment Toxicology and Chemistry*, 20 : 2000-2007.
- (17) Giesy, J.P. & Allred, P.M., 1985. Replicability of aquatic multispecies test systems. In Cairns, J. Jr. (ed.), *Multispecies Toxicity Testing*, SETAC Special Publications Series. Pergamon Press, New-York, 187-247.

PARTENAIRES

- INRA, Centre de Recherche de Rennes
UMR 985 Écobiologie et Qualité des Hydrosystèmes Continentaux
M.-A. Coutellec, M. Heydorff, L. Lefeuvre-Orfila, J. Russo
Unité Expérimentale Écologie et Écotoxicologie Aquatique
D. Azam, A. Quemeneur
- INRA, Centre de Recherche de Toulouse
UMR 1089 'Xénobiotiques'
J.-P. Cravedi, J.-Ph. Jaeg, A. Hillenweck
- INERIS, Verneuil-en-Halatte
Unité Évaluation des Risques Écotoxicologiques
J.-M. Porcher, W. Sanchez
- Université de Metz
Laboratoire Écotoxicité, Biodiversité, Santé Environnementale
P. Vasseur, L. Giamberini, C. Cossu-Leguille, R. Denoyelles, E. Guerbet
- Université de Franche-Comté, Besançon
Laboratoire de Biologie et Écophysiologie
M. Coeurdassier, A. de Vaufleury



APR 2002

ACTIONS DIRECTE ET INDIRECTE DES INSECTICIDES SUR LES BACTÉRIES ENDOCELLULAIRES ALTÉRANT LA SEXUALITÉ DES INSECTES

COORDINATEUR SCIENTIFIQUE :

Mylène WEILL

Institut des Sciences de
l'Évolution Montpellier,
UMR 5554 CNRS
Université Montpellier II,

CC 065, Place E. Bataillon
34095, Montpellier cedex 5

Tél : 04 67 14 32 62,
Fax : 04 67 14 36 22
weill@isem.univ-montp2.fr

PROJET DE RECHERCHE

Le projet est basé sur la découverte par l'équipe d'un effet des pesticides sur la bactérie endocellulaire *Wolbachia* (Berticat *et al.* 2002). Cette bactérie est connue pour infecter de nombreux arthropodes (Rousset *et al.* 1992) et modifier leur sexualité (Stouthamer *et al.* 1999). Les manipulations de la reproduction de leurs hôtes sont avantageuses pour ces bactéries et leur permettent d'envahir rapidement une population non infectée. De nombreux chercheurs souhaitent tirer parti de cette capacité d'invasion des *Wolbachia* dans la lutte contre les insectes en les utilisant comme vecteurs de gènes d'intérêt. Par exemple, un gène induisant la résistance à un parasite de l'homme serait introduit dans le génome d'une de ces bactéries qui envahirait ensuite les populations naturelles du vecteur invertébré. Ce programme de lutte génétique nécessite de comprendre, d'une part les mécanismes associés aux manipulations des hôtes par les *Wolbachia*, et d'autre part de comprendre, voire prédire, l'évolution de ces bactéries en populations naturelles.

Les *Wolbachia* sont transmises maternellement et chez le moustique *Culex pipiens*, elles provoquent des incompatibilités cytoplasmiques qui conduisent à une mort prématurée des embryons (Yen and Barr 1973). Ces incompatibilités sont mises en évidence lors de croisements entre mâles infectés et femelles non infectées ou entre individus infectés par des *Wolbachia* différentes.



Croisement compatible



Croisement incompatible

Le degré d'incompatibilité semble corrélé au taux d'infection des mâles (Solignac *et al.* 1994). Nous avons montré que la charge des moustiques en *Wolbachia* est plus élevée chez les moustiques résistants aux insecticides et cela quel que soit le mécanisme de résistance présent, estérases surproduites ou cible acétylcholinestérase modifiée (Berticat *et al.* 2002). Nous pensons que ce phénomène est la conséquence du coût physiologique global associé à la résistance. Les moustiques résistants se défendraient moins bien contre l'infection par *Wolbachia*.

Le projet est articulé autour de plusieurs thèmes. Tout d'abord approfondir l'étude des relations entre les gènes de résistance des moustiques et les *Wolbachia* (effet indirect des insecticides), et établir les conséquences de ces interférences dans les populations naturelles.

Nous voulons également étudier la variabilité génétique des *Wolbachia* en populations naturelles de moustiques, comprendre l'influence des mécanismes liés à l'incompatibilité cytoplasmique et identifier les facteurs qui contrôlent son évolution.

TRAVAUX DE RECHERCHE

Résistance aux insecticides et *Wolbachia*

Nos travaux antérieurs ont montré que la présence des gènes de résistance chez les moustiques induit un coût qui affecte de nombreux traits d'histoire de vie. En effet, les moustiques résistants présentent une valeur adaptative plus faible que les moustiques sensibles en absence d'insecticides. Ce coût représente d'ailleurs un paramètre important sur lequel reposent les méthodes de gestion de la résistance.

Pour déterminer l'éventuelle influence des *Wolbachia* dans le coût de la résistance, nous avons étudié l'effet de la présence de cette bactérie en comparant plusieurs souches à fond génétique identique, ne différant que par leurs allèles de résistance (construites par backcross successifs) contenant des *Wolbachia* ou débarrassées de ces bactéries suite à un traitement antibiotique. De nombreux traits d'histoire de vie ont été analysés (compétition sexuelle, échappement à la prédation, mortalité larvaire, temps de développement, longévité). Pour la plupart des traits étudiés, les souches résistantes sont désavantagées par rapport à la souche sensible quel que soit leur statut d'infection. Toutefois, les fortes densités bactériennes rencontrées dans certaines souches résistantes engendrent un coût additionnel fortement significatif sur plusieurs traits étudiés (Duron *et al.*, en révision) (Figure 1). Ce résultat est important puisqu'il démontre que l'effet de ces bactéries sur la valeur adaptative est variable selon le génotype des moustiques et peut donc influencer l'évolution de la résistance en population naturelle (par exemple la sélection des allèles les mieux adaptés).

Nous avons aussi étudié l'influence de la densité en *Wolbachia* sur les phénomènes d'incompatibilité cytoplasmique. Des expériences ont été réalisées pour mesurer l'incompatibilité due aux *Wolbachia* dans les croisements entre moustiques sensibles et résistants infectés par les mêmes bactéries. Les résultats ont montré que la charge bactérienne n'augmente pas les taux d'incompatibilité et ce quelles que soient les souches croisées.

Enfin, nous avons mesuré l'effet de l'infection bactérienne sur le taux de résistance des moustiques aux insecticides. La comparaison entre souches infectées et non-infectées n'a pas pu mettre en évidence un lien entre densité bactérienne et le niveau de résistance.

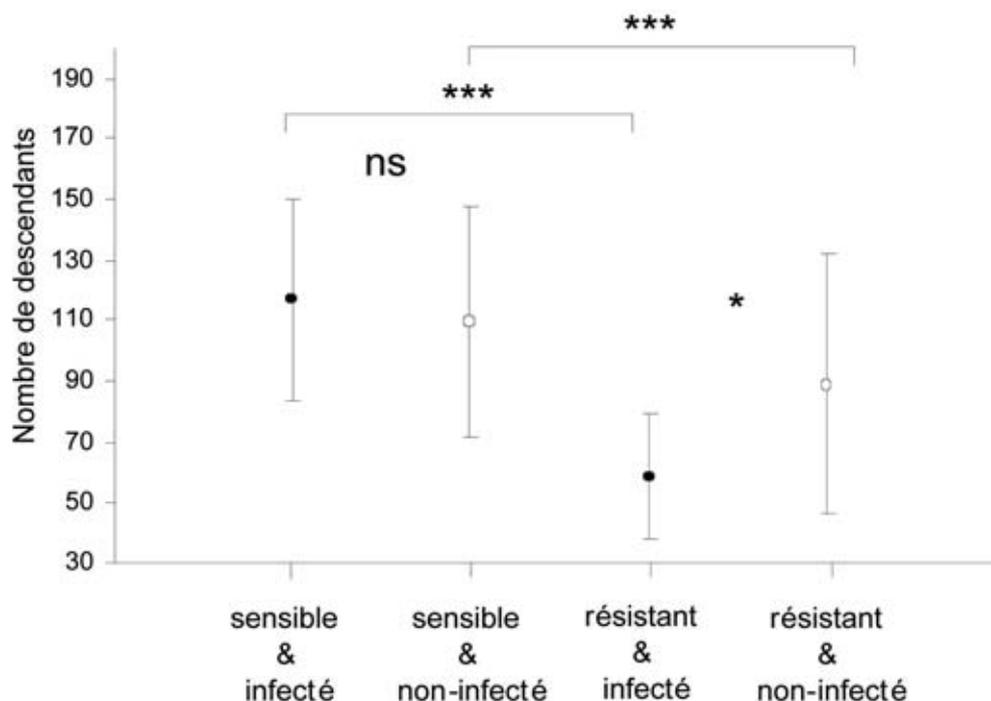


Figure 1: Fécondité des moustiques selon leur génotypes (sensible ou résistant aux insecticides) et l'infection par les *Wolbachia*. ns, non-significatif; *, $P < 0.05$; ***, $P < 0.001$.

Variabilité génétique des *Wolbachia* et rôle dans les incompatibilités cytoplasmiques

Le moustique *Culex pipiens* présente le plus grand nombre d'incompatibilités détectées dans la nature mais paradoxalement aucune variabilité génétique bactérienne n'avait pu être mise en évidence avec les marqueurs génétiques utilisés.

Nous avons récemment identifié plusieurs marqueurs moléculaires polymorphes et commencé l'étude de la variabilité des populations naturelles de *Wolbachia*. Ces études font l'objet de deux publications, l'une basée sur l'étude de l'élément transposable *Tr1* (Duron *et al.*, 2005a), l'autre sur une description des phages infectant les *Wolbachia* (Duron *et al.*, 2005b). Ces recherches ont révélé une extrême variabilité génétique des *Wolbachia* chez *Culex pipiens* et confirmé que l'infection par cette bactérie est la règle sur l'ensemble de la distribution géographique de ce moustique. L'étude de la région méditerranéenne suggère un éventuel impact de l'utilisation massive d'insecticides sur la diversité génétique des *Wolbachia* d'Afrique du Nord. Dans cette région, le traitement à grande échelle des populations de moustiques pourrait avoir facilité la fixation stochastique d'un seul génotype *Wolbachia*. Cette absence de polymorphisme contraste fortement avec la diversité observée dans le sud de l'Europe où les traitements insecticides sont par ailleurs moins intensifs (Figure 2). Cette influence indirecte du contrôle des populations par les insecticides pourrait ainsi modifier la dynamique naturelle des incompatibilités cytoplasmiques. Ce dernier point s'avère intéressant dans la perspective d'une lutte contre les moustiques via l'utilisation de *Wolbachia* et des incompatibilités qu'elles génèrent. La connaissance de l'évolution des *Wolbachia* en populations naturelles est déterminante pour leur utilisation dans la lutte contre les moustiques.

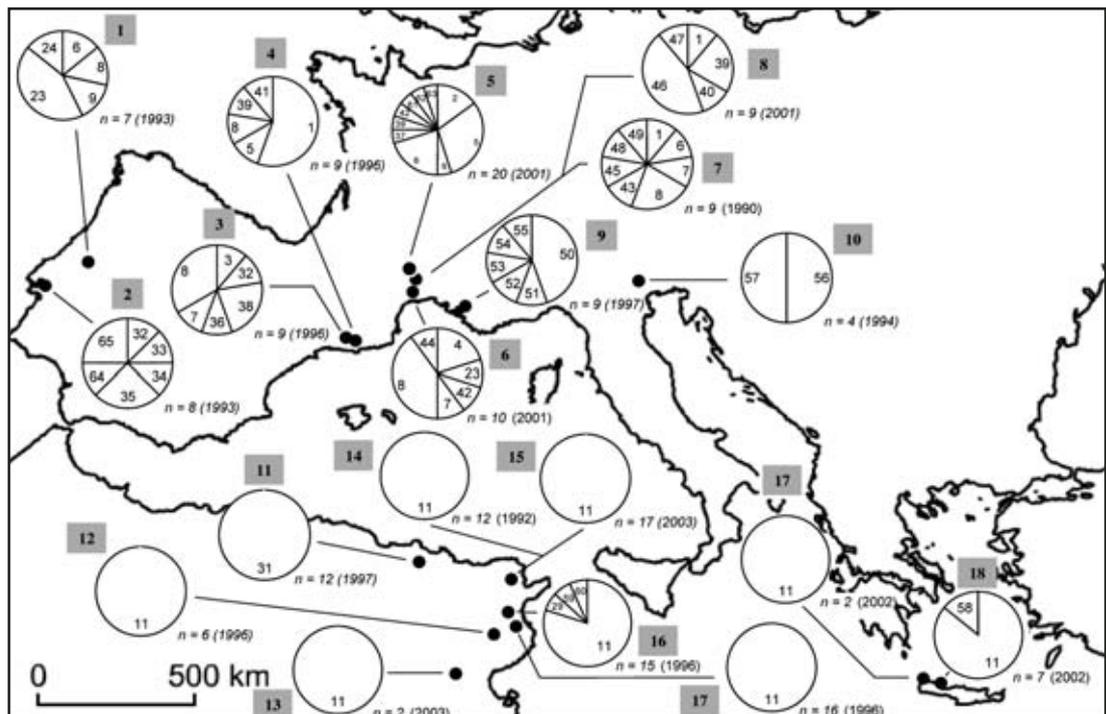


Figure 2: Répartition de la variabilité génétique des *Wolbachia* infectant *C. pipiens*. Les numéros dans les carrés désignent les populations, et les numéros dans les cercles les différents variants bactériens.

Références citées

- Berticat C., Rousset F., Raymond M., Berthomieu A., and Weill M. (2002). High *Wolbachia* density in insecticide-resistant mosquitoes. *Proceedings of The Royal Society of London Serie B*, 269, 1413-1416.
- Rousset F., Bouchon D., Pintureau B., Juchault P., and Solignac M. (1992). *Wolbachia* endosymbionts responsible for various alterations of sexuality in arthropods. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 250(1328), 91-98.
- Solignac M., Vautrin D., Rousset F. (1994). Widespread occurrence of the proteobacteria

Wolbachia and partial cytoplasmic incompatibility in *Drosophila melanogaster*. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences de Paris, Série III*, 317, 461-470.

- Stouthamer R., Breeuwer J. A. J., Hurst G. D. D. (1999). *Wolbachia pipientis*: Microbial manipulator of arthropod reproduction. *Annual Review of Microbiology*, 53, 71-102.
- Weill M., Berticat C., Raymond M. & Chevillon C. (2000). Quantitative polymerase chain reaction to estimate the number of amplified esterase genes in insecticide-resistant mosquitoes. *Analytical Biochemistry*, 285, 267-270.
- Yen J.H., Barr A.R. (1973). The etiological agent of cytoplasmic incompatibility in *Culex pipiens*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 22, 242-250.

ARTICULATION AVEC LES PROGRAMMES RÉGIONAUX, NATIONAUX ET EUROPÉENS

Il existe actuellement un programme européen de séquençage complet du génome de *Wolbachia*. Cela générera nécessairement de nombreux outils moléculaires qui pourront être utilisés dans le cadre de ce projet. Nous collaborons actuellement avec le principal organisateur de ce projet: Kostas Bourtzis (Héraklion, Grèce).

PUBLICATIONS ET VALORISATIONS

Olivier Duron soutiendra sa thèse le 15 décembre 2005.

Articles scientifiques

- Duron O., Lagnel J., Raymond M., Bourtzis K., Fort P. & Weill M. (2005). Transposable element polymorphism of *Wolbachia* in the mosquito *Culex pipiens*: evidence of genetic diversity, super-infection and recombination. *Molecular Ecology*, 14, 1561-1573.
- Duron O, Fort P & Weill M "Hyper variable prophage WO sequences describe an unexpected high number of *Wolbachia* variants in the mosquito *Culex pipiens*." *Proceedings of the Royal Society of London, Serie B, Biological Sciences*, in press.
- Duron O., Labbé P, Berticat C., Rousset F., Guillot S., Raymond M. & Weill M. High *Wolbachia* density correlates with infection cost in insecticide resistant *Culex pipiens* mosquitoes. *Revision in Evolution*.

Participation à des colloques

- | | |
|------------|---|
| Janvier-05 | <ul style="list-style-type: none">• Duron O. Crossing types variability and genetic polymorphism of <i>Wolbachia</i> infecting the mosquito <i>Culex pipiens</i>. Réunion du groupe Génétique et Environnement, ISEM, Montpellier (France). |
| Janvier-05 | <ul style="list-style-type: none">• Duron O. Cytoplasmic incompatibilities and genetic polymorphism of <i>Wolbachia</i> infecting the mosquito <i>Culex pipiens</i>. Exposé pour le Réseau d'Ecologie des Interactions Durables, CNRS, Lyon (France). |
| Aout-04 | <ul style="list-style-type: none">• Duron, O. World distribution and genetic distribution of <i>Wolbachia</i> inducing cytoplasmic incompatibilities in the mosquito <i>Culex pipiens</i>. 3^{ème} Conférence Internationale sur les <i>Wolbachia</i>, Heron Island (Australia). |
| Mai-04 | <ul style="list-style-type: none">• Duron O. Transposable element polymorphism of <i>Wolbachia</i> in the mosquito <i>Culex pipiens</i>: evidence of genetic diversity, super-infection and recombination. Exposé à l'IFR 119 "Biodiversité Continentale Méditerranéenne et Tropicale", CNRS, Montpellier (France). |
| Février-04 | <ul style="list-style-type: none">• Duron O. <i>Wolbachia</i> density and insecticide resistance in the mosquito <i>Culex pipiens</i>. Groupe de travail "Procaryotes-Eucaryotes" du Réseau d'Ecologie des Interactions Durables, CNRS, Lyon (France). |

- Décembre-03 • Duron O. Transposable element polymorphism of *Wolbachia* in the mosquito *Culex pipiens*. Exposé à l'Institut pour la Recherche et le Développement (IRD), Montpellier, (France).
- Aout-03 • Duron O. Impact of high *Wolbachia* density in insecticide resistant mosquito *Culex pipiens*. 25^{ème} Petit Pois Dérivé Conference, Toulouse (France).







Session 3

DÉVELOPPEMENT ET MISE EN ŒUVRE D'APPROCHES PERMETTANT DE LIMITER L'USAGE DES PESTICIDES

SYNTHESE DU VOLET 3 par Jean-Marc MEYNARD et Benoît REAL

- Développer des méthodes alternatives à la lutte chimique

TRAVAUX DE RECHERCHE FINANCÉS SUITE À L'APR 1999

- Gestion des populations de mauvaises herbes et évaluation de systèmes de culture intégrés pour une réduction de la pollution par les traitements herbicides – Bruno CHAUVEL
- Evaluation et gestion des risques spatio-temporels de pullulation du campagnol terrestre – Jean-François COSSON
- Utilisation et transfert des phytosanitaires dans un bassin versant urbanisé – Jean-Marie MOUCHEL
- Les associations de variétés de blé pour limiter les épidémies et réduire l'utilisation de fongicides : critères de sélection, modalités d'application pratiques, durabilité – Claude POPE de VALLAVIELLE
- Impact biocénétique des modes de protection contre le carpocapse des pommes – Benoît SAUPHANOR

TRAVAUX DE RECHERCHE FINANCÉS SUITE À L'APR 2002

- Etude et modélisation des liens entre opérations culturales, caractères des fruits ou de la plante et contamination par les monilioses en verger de pêchers en vue d'une protection durable – Françoise LESCOURRET
- Ecobilan des luttés chimiques contre les larves phytophages du sol. Recherche de stratégies agronomiquement, écologiquement et socialement acceptables – Patrick RAVANEL
- Conduite intégrée du colza et gestion du système de culture pour la réduction de l'utilisation des pesticides – Muriel VALANTIN -MORISON
- Viticulture, vins et pesticides – Marie-Claude BELIS-BERGOUIGNAN



DÉVELOPPER DES MÉTHODES ALTERNATIVES À LA LUTTE CHIMIQUE

RÉDACTEURS :

Jean-Marc MEYNARD

Directeur de Recherche
à l'INRA-D,
département Sciences
pour l'Action et le
Développement,

F78850 Thiverval-Grignon,
meynard@grignon.inra.fr

Benoît RÉAL

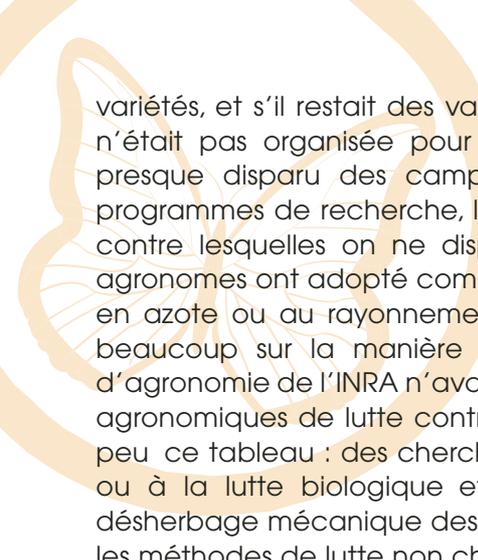
ARVALIS
Institut du végétal,
Estrées Mons, BP 70156,
F80203 Péronne Cedex,
b.real@arvalisinstitutduvegetal.fr

Entre 1960 et 1990, la lutte chimique contre les ennemis des cultures s'est généralisée en France, à toutes les cultures, presque tous les bio-agresseurs, presque toutes les exploitations agricoles. Une panoplie phytosanitaire de plus en plus étendue, des matières actives de plus en plus efficaces, des matériels d'épandage de plus en plus performants, une compétence croissante des agriculteurs et de leur encadrement technique concernant l'usage des pesticides : tout concourrait à un développement de la solution chimique.

Les méthodes culturales sont tombées en désuétude, ou presque : l'alternance des cultures apparaissant moins nécessaire au contrôle des maladies et adventices, on a assisté au développement de monocultures ou de rotations courtes ; le travail du sol n'ayant plus de rôle majeur dans la lutte contre les adventices, il a été simplifié pour réduire le temps de travail; les agriculteurs ont choisi leurs variétés sur des critères de productivité, n'accordant souvent qu'une importance mineure à leur résistance aux maladies... En définitive, la lutte chimique contre les bio-agresseurs est devenue le pivot des systèmes de culture. La «conduite intensive du blé», qui s'est développée en Europe de l'Ouest entre 1978 et 1985¹ et marque encore profondément les systèmes actuels, en constitue une illustration emblématique. Pour accroître les rendements, les agriculteurs ont avancé leurs dates de semis et augmenté les densités (afin de maximiser l'interception de l'énergie lumineuse) ; ils ont aussi accru les doses d'engrais azoté, systématiquement fractionnées pour éviter toute carence. Ces évolutions n'avaient pas eu lieu plus tôt parce qu'elles entraînent de forts risques de développement de graminées adventices (semis précoce), de pucerons d'automne (semis précoce), de verse et de maladies cryptogamiques (semis précoce, densité forte, alimentation N soutenue) : mais vers la fin des années 70, on disposait d'une maîtrise des herbicides, insecticides, régulateurs de croissance et fongicides que l'on estimait suffisante pour que cette prise de risque ne portât pas préjudice au rendement. Dit autrement, **les techniques associées à la recherche d'un rendement élevé rendaient la réussite de la culture totalement dépendante de la réussite des traitements phytosanitaires.**

L'illusion que les pesticides, toujours plus performants, toujours plus propres, toujours plus spécifiques allaient résoudre tous les problèmes était ancrée au cœur des organismes de recherche et de développement. Le conseil en protection des plantes est devenu dans les années 80 l'apanage des techniciens qui vendaient les produits phytosanitaires; les essais variétés, conduits de manière intensive, visaient à faire exprimer leurs potentialités aux

¹ Voir l'analyse qu'en font Meynard J.M. et Girardin P., 1991. Produire autrement. *Courrier de l'Environnement de l'INRA*. 15, 1-19



variétés, et s'il restait des variantes non traitées dans certains essais, la communication n'était pas organisée pour mettre ces résultats en valeur ; les essais «rotation» ont presque disparu des campagnes et des stations expérimentales... Au niveau des programmes de recherche, les pathologistes ont concentré leurs efforts sur les maladies contre lesquelles on ne disposait pas de méthodes de lutte chimique efficace. Les agronomes ont adopté comme objet d'étude la plante saine, s'intéressant à ses besoins en azote ou au rayonnement lumineux que son feuillage intercepte, sans s'interroger beaucoup sur la manière de préserver cette santé si précieuse. Le département d'agronomie de l'INRA n'avait en 1980 aucun programme de recherche sur les méthodes agronomiques de lutte contre les ennemis des cultures... Il faudrait bien sûr nuancer un peu ce tableau : des chercheurs s'intéressaient aux résistances variétales aux maladies ou à la lutte biologique et certains Instituts Techniques étudiaient la faisabilité du désherbage mécanique des cultures; l'OILB avait commencé à synthétiser les acquis sur les méthodes de lutte non chimique. Mais tout cela restait bien timide et concernait peu de chercheurs.

Depuis 1990 environ, l'investissement en recherche-développement sur les méthodes de protection des plantes alternatives aux pesticides croît lentement ; des équipes de recherche pluridisciplinaires se mobilisent, des réseaux expérimentaux multi-partenaires sont mis en place² ; les outils d'aide à la décision se multiplient. Cependant, les pesanteurs restent importantes, dans tous les métiers concernés (de l'agriculteur au chercheur en passant par les conseillers ou les ingénieurs du développement agricole). Des cas exemplaires de systèmes de production utilisant peu ou pas de pesticides existent, mais en petit nombre : dans beaucoup de situations, on ne dispose pas encore d'autre solution que la lutte chimique, qui soit satisfaisante au plan socio-économique. **Le 3^{ème} volet du programme «Evaluation et réduction des risques liés à l'utilisation des pesticides» affichait l'ambition de conforter cette dynamique, son objectif étant de promouvoir la «conception d'outils d'aide à la décision et de techniques visant à réduire les risques liés à l'usage des pesticides».** La synthèse des acquis du premier appel d'offres, que nous présentons ci-après, montre que beaucoup de choses sont possibles, pourvu qu'on se mobilise. Nous proposons un cadre de réflexion pour concevoir une suite aux travaux de recherche-développement et tentons d'ébaucher les grandes lignes d'un plan d'accompagnement du développement de méthodes de protection alternatives.

LA PROTECTION NON CHIMIQUE ASSOCIE DES ACTIONS CONDUITES À DES TEMPORALITÉS ET DES ÉCHELLES VARIÉES

Pour réduire ou supprimer l'usage des pesticides, la panoplie des moyens utilisables est théoriquement très large : résistances génétiques des plantes aux bio-agresseurs, ou induction de résistances, lâchers d'auxiliaires (ennemis naturels de bio-agresseurs) ou techniques les favorisant, destruction mécanique ou thermique des bio-agresseurs ou de leurs hôtes, réduction des populations par la diversification des espèces cultivées... Cette liste n'est pas exhaustive. Certains de ces moyens s'adressent, comme les pesticides, aux populations présentes dans la culture que l'on veut protéger, au moment où celle-ci est susceptible d'en être affectée. Mais beaucoup d'entre eux visent en amont à réduire les populations de bio-agresseurs ou à favoriser leurs ennemis naturels, dans les mois / années qui précèdent ou dans les éléments de paysage voisins de la parcelle à protéger. Ces moyens sont le plus souvent moins radicaux ou moins rapidement efficaces pour réduire les populations de bio-agresseurs que les pesticides. Pour obtenir une efficacité suffisante au moment voulu, il faut les associer, anticiper et répéter les interventions, parfois en

2 Voir par exemple le réseau pluriannuel mis en place entre 1999 et 2002 par l'INRA, plusieurs sélectionneurs de céréales privés (GIE Club des cinq) et Arvalis-Institut-du-végétal pour analyser l'intérêt économique et agronomique de variétés de blé rustiques associées à des itinéraires techniques à bas intrants. Voir les synthèses des résultats de ce réseau publiées par Loyce C. et al., 2001. *les variétés de blé tolérantes aux maladies: une innovation majeure à valoriser par des itinéraires techniques économes. Perspectives Agricoles*, 268, 50-56 ; Felix I. et al., 2003. *Une des voies pour s'adapter aux baisses de prix du blé : des variétés rustiques conduites à faible coût. Perspectives Agricoles*, 290, 22-29. et Rolland B., et al. 2003. *Des itinéraires techniques à bas niveaux d'intrants pour des variétés rustiques de blé tendre : une alternative pour concilier économie et environnement. Courrier de l'Environnement de l'INRA*, 49, 47-62.

compléter l'efficacité par une protection chimique réduite. On ne substituera pas à la lutte chimique une méthode alternative miracle (génétique ou autre), on devra combiner, agencer, intégrer différentes méthodes de protection pour obtenir une efficacité satisfaisante.

Intégrer différentes méthodes de lutte pour maîtriser les populations de bio-agresseurs, en agissant sur l'ensemble de leur cycle biologique et sur les équilibres écologiques dans la parcelle et son environnement, c'est l'esprit de la **protection intégrée des cultures**³. Cette notion s'applique aussi bien aux systèmes sans pesticides qu'aux systèmes où l'on accepte d'en utiliser en dernier recours. Les systèmes de protection intégrée qu'il s'agit de mettre au point doivent s'inscrire dans le développement durable, c'est-à-dire, schématiquement, assurer aux agriculteurs un résultat économique satisfaisant (en niveau moyen et régularité), aux consommateurs un approvisionnement régulier en produits de qualité, et respecter, sur le court et long terme, le milieu écologique.

Il découle de ces éléments que la protection intégrée nécessite la mise en œuvre coordonnée d'actions à différentes échelles et temporalités. C'est ce que nous avons cherché à représenter dans le tableau 1.

Temporalités de l'action	Parcelle ou îlot de parcelles	Bassin de production, petite région	Région, pays, UE
Ajustement tactique des interventions phytosanitaires	(1) Observer les maladies ou la flore présente avant d'intervenir ; ajuster les traitements en fonction des parcelles (sol, système de culture, observations) et du climat.	(4) Elaborer et diffuser en temps réel des informations locales ou régionales sur les risques parasitaires. Favoriser l'apprentissage de l'usage des pesticides et des indicateurs.	(7) Mettre au point, tester, diffuser des indicateurs de risque environnemental liés à l'emploi des pesticides. Communiquer sur les bonnes pratiques de traitement.
Réduction des populations ou de leur nuisibilité par des stratégies de campagne (itinéraire technique)	(2) Choisir des variétés résistantes ou tolérantes ; raisonner les techniques de culture en fonction de leur effet synergique sur les populations de bio-agresseurs et d'auxiliaires	(5) Organiser la diversification des sources de résistance génétique au niveau du paysage Favoriser l'apprentissage des nouveaux ITK.	(8) Favoriser l'inscription de variétés résistantes aux bio-agresseurs Caractériser les résistances des variétés et des associations ; diffuser l'information.
Réduction des risques de parasites ou adventices par des stratégies de long terme	(3) Par des systèmes de culture appropriés (ITK, rotation), réduire l'inoculum parasite et le stock de semences d'adventices ; favoriser les auxiliaires.	(6) Coordonner l'agencement des systèmes de culture et des motifs paysagers, pour réduire au niveau local les populations de bio-agresseurs, ou favoriser les auxiliaires.	(9) Encourager les recherches sur les méthodes de protection intégrée, combinant différentes échelles et temporalités d'action, et sur les conditions de leur adoption.

Tableau 1 : Temporalités et échelles de l'action en protection intégrée des cultures

3 « Protection intégrée des cultures » : « *integrated crop protection* », ou « *integrated pest management (IPM)* » ; cette dernière expression a une acception plus large, car elle s'applique aussi aux forêts et espaces verts. L'expertise collective Pesticides INRA-CEMAGREF renvoie aux nombreuses définitions de IPM qui peuvent être trouvées sur le site: www.ippc.orst.edu/IPMdefinition/home.html . On citera ici la définition de la FAO (1968), rapportée par le rapport de l'expertise collective : « *IPM is defined as a pest management system that, in the context of the associated environment and the population dynamics of the pest species, utilizes all suitable techniques in as compatible a manner as possible, and maintains the pest populations at levels below those causing economic injury. In its restricted sense, it refers to the management of single pest species on specific crops or in particular places. In a more general sense, it applies to the coordinated management of all pest populations in the agricultural or forest environment. It is not only the juxtaposition or superimposition of two control techniques (...) but the integration of all suitable management techniques with the natural regulating and limiting elements of the environment.*».

Les lignes de ce tableau⁴ distinguent d'une part les actions tactiques (1^{ère} ligne : ajustement raisonné des interventions phytosanitaires aux risques effectifs de chaque situation agricole) et des actions stratégiques, orientées vers une régulation des populations, conduites au niveau de la campagne culturale (2^{ème} ligne), ou sur le long terme (3^{ème} ligne), et mettant en jeu d'autres choix techniques que les applications phytosanitaires. Les colonnes du tableau correspondent à différentes échelles d'action, de la parcelle ou du bord de route au bassin de production et au pays. Dans les cases, on a répertorié différentes actions relevant du développement de la protection intégrée ; elles sont de natures très diverses, mobilisant potentiellement de nombreux acteurs. Il s'agit en particulier de :

- mettre en œuvre des méthodes génétiques, biologiques ou agronomiques pour maîtriser les populations de bio-agresseurs ;
- diversifier les matières actives, les gènes de résistance et plus généralement, les techniques de lutte pour éviter l'adaptation des populations, sur le moyen ou le long terme ;
- recueillir, traiter, diffuser l'information nécessaire à la mise en œuvre de la protection intégrée ;
- assurer la formation des acteurs de la protection intégrée ; leur permettre d'évaluer leurs actions pour en améliorer l'efficacité.

Très concrètement, ce tableau servira à positionner les résultats opérationnels, acquis ou prévus, issus des projets financés dans le cadre du 3^{ème} volet de l'appel d'offre.

ETUDES DE CAS : DE L'ANALYSE DU PROBLÈME À LA PROPOSITION D'ACTION

Les associations variétales pour limiter les épidémies et réduire l'utilisation des fongicides : critères de sélection, modalités d'application, durabilité

(programme coordonné par Claude Pope, INRA, Grignon).

Ce travail de recherche, pour l'instant orienté sur le blé tendre panifiable s'inscrit dans un double objectif. Tout d'abord, à moyen ou court terme, freiner les épidémies et réduire les coûts imputables aux fongicides par une diversification des variétés résistantes. Ce premier axe a été décliné par la constitution d'associations de plusieurs variétés de blés panifiables supérieurs et par la mise en culture de ces associations dans des parcelles agricoles en adaptant leur système de culture. Le deuxième objectif vise le plus long terme : retarder le contournement des résistances de ces mélanges variétaux aux maladies cryptogamiques pour assurer la durabilité de leur résistance.

La méthode utilisée pour choisir les variétés à associer a reposé sur le test de la valeur prédictive de mélanges binaires pour aboutir à des mélanges plus complexes. La comparaison en plein champ d'associations variétales quaternaires et de cultures monovariétales a permis de mesurer la résistance de ces associations variétales à certaines maladies mais aussi la stabilité de la production et la qualité des récoltes produites. L'adaptation de l'itinéraire technique a consisté à retarder le semis, à réduire la densité de semis et la fertilisation azotée ; un seul traitement fongicide a été appliqué sur la majorité des parcelles ; les intrants ont été réduits de 30 % par rapport aux pratiques classiques. Cet itinéraire technique a été testé pendant 2 ans sur 19 situations différentes. La septoriose, maladie foliaire et de l'épi, dominante au cours de l'étude, a vu son niveau baisser de 6 % dans les associations variétales par rapport à la moyenne des productions monovariétales. Le rendement des associations variétales a été supérieur de 0,32 t/ha et leur taux de protéines a été supérieur de 0,54 %. La qualité des récoltes, évaluée par la note de panification, a été du même niveau dans les associations variétales et les cultures

4 Ce tableau est adapté de Lucas P. et Meynard J.M. (2000), rapport à la Direction de l'INRA sur les recherches à développer en matière de protection intégrée, et de Meynard J.M., Doré T., Lucas P., 2003. *Agronomic approach : cropping systems and plant diseases*, CR Acad Sci. Biologies, 326, 37-46

monovariétales. L'augmentation du rendement et du taux de protéines est particulièrement intéressante quand on sait qu'une relation inverse existe entre ces deux critères dans les cultures monovariétales.

D'autre part, l'étude a pu montrer à l'aide d'un modèle de simulation décrivant la structure génétique d'une population de parasites sur des associations et d'une expérimentation de terrain concernant l'oïdium, que la stabilité et la durabilité de la résistance des associations variétales est supérieure à celle des variétés de blé en culture monovariétale.

Les associations variétales sont actuellement étudiées sur d'autres espèces par l'INRA : le pommier, la pomme de terre et la laitue. Leur efficacité n'est pas équivalente avec tous les pathosystèmes mais dans la majorité des cas, un effet significatif est observé notamment quand elles sont associées à d'autres moyens de lutte destinés à réduire le développement des maladies. Les associations variétales constituent un des éléments possibles des systèmes de culture de protection intégrée du blé. L'utilisation de la diversité génétique, en valorisant les génotypes résistants disponibles, constitue un moyen de stabiliser le rendement et la qualité dans des systèmes à bas niveau d'intrants. Le transfert de la culture d'associations variétales a débuté au cours de l'étude avec les Chambres d'Agriculture de l'Oise, de l'Aube et de l'Eure pour la valorisation de ces associations, avec un cahier des charges «conduite intégrée», par deux meuniers pour un marché de niche très spécifique (farine de haute valeur en panification, avec traçabilité des modes de production).

Les résultats présentés ont concerné deux maladies du blé tendre. Or le blé, comme toutes les cultures est soumis à un complexe parasitaire plus large et dépendant du climat local. Ainsi si la septoriose est présente sur tout le Nord de la France, l'oïdium est plus particulièrement cantonné en terre de craie et les bordures maritimes connaissent des épidémies de rouille jaune. Dans le Sud, la rouille brune est le pathogène le plus présent. Des résultats antérieurs ayant montré que les associations de variétés résistantes sont une protection efficace contre les rouilles du blé, et, plus généralement, contre les maladies foliaires ayant un développement polycyclique, on peut avancer que les associations variétales sont efficaces pour réduire toutes les maladies foliaires du blé. La fusariose, présente un peu partout, est susceptible d'entraîner la présence de mycotoxines dans un contexte réglementaire en évolution qui impose maintenant des seuils de présence plus draconiens pour la commercialisation et l'utilisation des céréales. Il serait donc souhaitable que des études de terrain soient réalisées pour analyser l'effet des associations sur les fusarioses et les mycotoxines. D'autre part, si les systèmes de protection intégrés sont une des voies permettant de réduire l'utilisation des pesticides, il paraît important de préciser l'ensemble des techniques, qui dans le cadre des rotations permettent de réduire la pression parasitaire des cultures : choix de la rotation, travail du sol, dates et densités de semis, positionnement optimal des semences, etc.

Cette étude s'intègre parfaitement dans plusieurs échelles et plusieurs types d'actions destinées à réduire l'utilisation des pesticides comme cela a été présenté en première partie (tableau 2). En effet, les résultats concernent autant l'ajustement tactique et des stratégies de campagne à l'échelle de la parcelle qu'à l'échelle du bassin de production ou de la petite région. On peut même considérer qu'elle s'inscrit dans une dimension européenne puisque l'équipe de recherche participe à un Cost Européen s'intéressant à la sélection de variétés résistantes.

La définition de ces itinéraires techniques et leur diffusion auprès des agriculteurs et des responsables de collecte, pourrait permettre d'étendre le transfert de ces techniques vers la production de blés destinés à l'alimentation animale ou à la production de biocarburants à partir du moment où la segmentation de la collecte est parfaitement maîtrisée et si le problème des mycotoxines est résolu. Quant à la production de blés destinés à l'alimentation humaine, cela paraît plus difficile dans la mesure où souvent le transformateur, pour des marchés importants, achète des variétés pures qu'il assemblera selon la destination de la transformation en fonction des critères de qualité qui lui sont nécessaires et qui varient selon les régions et le climat de chaque campagne.

Etude et modélisation des liens entre opérations culturales, caractères des fruits ou de la plante et contamination par les monilioses en verger de pêchers en vue d'une protection durable

(programme coordonné par Françoise Lescourret, INRA, unité PSH, Avignon).

Cette étude a pour objectif de mettre au point de nouvelles techniques culturales susceptibles de modifier l'incidence des monilioses sur pêchers. Par son intérêt économique, la pêche est la deuxième espèce fruitière et les monilioses sont une des maladies les plus dommageables sur arbre fruitier : jusqu'à 30 - 40 % de perte de récolte en cas d'année climatique favorable à cette maladie.

Le travail de recherche s'est déroulé en trois temps. Tout d'abord, ont été étudiées les relations entre la croissance des fruits, les monilioses et un certain nombre d'opérations culturales comme la non irrigation ou l'irrigation selon deux méthodes différentes, des conduites avec faible ou forte charge en fruits. Dans une deuxième tâche, l'étude s'est intéressée à l'effet du mode de conduite de l'arbre en interaction avec l'irrigation sur le développement des monilioses et les performances agronomiques. Enfin, à la suite de ces travaux, il est prévu d'utiliser un simulateur couplant agronomie et épidémiologie pour tester des scénarios différents de la conduite des vergers de pêchers.

La première partie de l'étude a permis de faire le lien entre la modélisation de l'évolution de la conductance cuticulaire des fruits et l'influence des opérations culturales puis de valider le paramétrage du modèle sur la variété précoce de pêche blanche Alexandra. L'évolution de la conductance cuticulaire traduit l'importance des craquelures de l'épiderme du fruit lors des périodes où l'expansion de la pulpe du fruit est supérieure à la croissance de son épiderme. Ces craquelures constituent des voies d'entrée des monilioses dans le fruit. Les résultats montrent que la densité maximale de craquelures, atteinte 65 jours après floraison, serait plus importante (20 %) sur les fruits dont la modalité de croissance a été la plus forte (conduite avec faible charge en fruits), de l'ordre de 15 à 18 % pour les modalités où les croissances étaient modérées, et inférieure à 3 % pour les modalités ayant conduit à de faibles croissances (conduite avec haute charge en fruit). On notera toutefois que selon les deux campagnes d'étude, l'irrigation peut conduire à des densités de craquelures variant de 3 % à 18 %.

En 2004, de nouveaux essais ont été mis en place sur la même variété mais aussi sur une nectarine tardive, variété Zéphyr. Des contaminations artificielles de *M. laxa* ont également été réalisées sur fruits détachés et les résultats sont maintenant attendus.

La seconde tâche de l'étude a été effectuée sur une parcelle de vergers plantée en 2000 (nectarine jaune Nectaross) comprenant 4 traitements (combinaison de 2 facteurs, taille et irrigation, avec chacun 2 modalités). La taille était classique ou par arrachage manuel de jeunes pousses végétatives. L'irrigation était menée selon la méthode du bilan hydrique ou selon micromorphométrie Pépista qui réduit de 2/3 les quantités d'eau apportées. Les temps de travaux de taille et d'arrachage manuel ont été identiques. Les résultats de deux campagnes d'expérimentation montrent que la vigueur des arbres ne paraît pas influencée ni par les restrictions hydriques, ni par l'effeuillage important provoqué par l'arrachage manuel, le pêcher présentant une capacité de « récupération » de croissance. D'autre part, si on assiste à une diminution non significative du calibre des fruits, leur teneur en sucre ainsi que le pourcentage de fruits sans défauts augmentent. De plus le rendement n'est pas pénalisé du fait d'une diminution de la chute des fruits au stade de la prématurité. Quand aux attaques de monilioses, l'arrachage manuel permet de les réduire de 54 % et l'irrigation conduite avec Pépista de 47 %. Néanmoins une autre maladie a été notée de manière plus importante sur un lot de la récolte 2004 avec l'arrachage manuel : 22,5 % d'oïdium contre 12,8 en taille normale.

La construction de scénarios de systèmes de culture sera réalisée lors des dernières phases du programme. Il s'agira alors de s'assurer que les techniques retenues pour prévenir les dégâts de monilia permettent effectivement de réduire l'usage de fongicides et n'ont pas de conséquences gênantes pour d'autres bio-agresseurs ou caractères de qualité. Bien que

ce programme de recherche particulièrement intéressant ne soit pas achevé, ces premiers résultats permettent d'envisager un transfert rapide de nouvelles techniques de conduite des vergers de pêcheurs. C'est un des intérêts de cette étude qui s'inscrit dans la mise au point de stratégie de campagne par la modification des itinéraires techniques étape importante du développement de la protection intégrée (tableau 2). Ces transferts de pratiques ne pourront se réaliser uniquement avec la publication des actes du colloque ou des publications scientifiques. Il faudra encourager une dynamique de validation des itinéraires techniques proposés et de vulgarisation en partenariat avec les Instituts Techniques, Chambres d'Agriculture et groupements techniques de producteurs, avec des opérations de démonstrations pour que ces techniques voient leur apparition de manière significative dans les vergers de pêcher. Il serait souhaitable qu'à l'heure où la consommation de fruits a tendance à augmenter, les mécanismes de régulation des marchés permettent aux arboriculteurs français, et notamment les producteurs de pêches, de sortir d'une crise qui met leur situation économique en difficulté et qui ne les motivera sans doute pas pour s'investir dans de nouvelles pistes techniques.

Impact biocénétique des modes de protection contre le carpocapse des pommes

(programme coordonné par Benoît Sauphanor, INRA Avignon)

Cette étude s'intéresse à l'impact des systèmes de protection des vergers de pommiers sur l'abondance et la richesse spécifique des arthropodes auxiliaires et phytophages, des hyménoptères parasitoïdes et des oiseaux dans les vergers et leur environnement proche, les haies.

Les observations ont été conduites dans la région d'Avignon sur 5 vergers en agriculture biologique, 10 vergers sous cahier des charges Production Fruitière Intégrée dont 5 avec protection chimique contre le carpocapse et 5 pratiquant une méthode alternative de protection par confusion sexuelle. Des observations complémentaires ont été réalisées sur un verger familial proche de Cavaillon et non traité depuis 20 ans. Selon les systèmes pratiqués, le nombre de traitements varie en sachant qu'en système de protection biologique seuls 14 traitements fongicides minéraux sont pratiqués alors que dans les autres systèmes, en plus des interventions fongicides avec des produits organiques et minéraux, 9 à 17 traitements insecticides sont appliqués.

Rappelons que la lutte insecticide contre le carpocapse affecte la diversité intra spécifique des espèces cibles et non cibles notamment par sélection de populations résistantes. Dans la plupart des vergers du Sud-Est, le carpocapse présente une résistance croisée à plusieurs familles d'insecticides. Seul le verger familial, non traité et isolé des vergers traités chimiquement conserve une phénologie sensible. Des taux élevés de phénotypes résistants sont observés dans les vergers pratiquant la confusion sexuelle de même que dans les vergers passés en agriculture biologique depuis seulement 5 à 9 ans. Cela est dû à la capacité de l'insecte à se déplacer de plusieurs kilomètres et à la nature croisée des résistances. Les traitements appliqués en appui dans les vergers pratiquant la confusion sexuelle perdent de leur efficacité et ont tendance à augmenter, remettant ainsi en cause l'intérêt de la méthode. De plus, dans les pays ayant adopté la confusion sexuelle depuis plusieurs années, la réduction des traitements insecticides non spécifiques a permis localement des infestations de nouveaux ravageurs du pommier. En agriculture biologique, la lutte contre la tavelure à l'aide de soufre, toxique contre les ennemis naturels des acaridés peut provoquer le développement de *P. ulmi*.

Les dénombrements réalisés montrent que l'abondance et la richesse spécifique des arthropodes phytophages et auxiliaires sont plus élevées dans les vergers en agriculture biologique. Mais les réponses aux systèmes de protection diffèrent entre groupes d'insectes. L'abondance des hyménoptères parasitoïdes est moins élevée dans le système biologique et les prédateurs généralistes sont les plus fortement affectés dans le système conventionnel. Pour les mineuses et leurs parasitoïdes, c'est la modalité confusion sexuelle qui présente le moins de perturbation par rapport au verger témoin.

L'influence des systèmes de protection sur les communautés aviaires insectivores est importante. Le suivi pendant 3 ans au moyen de nichoirs montre que la mésange bleue et le moineau friquet ne s'installent que dans les vergers en protection biologique. La mésange charbonnière colonise l'ensemble des systèmes mais le nombre de jeunes produits qui s'établissent à 17/ha en protection biologique décroît significativement en confusion sexuelle et en conventionnel. Cela provient à la fois de la réduction de nourriture causée par ces deux systèmes de protection et de l'action neurotoxique des traitements qui altèrent la capacité de nourrissage des adultes. La richesse et l'abondance de la communauté aviaire sont plus élevées en système biologique et décroissent en confusion et en conventionnel.

Cette étude est à replacer dans le contexte actuel de la production de pomme. Tout d'abord, la raréfaction des pesticides utilisables, l'évolution rapide des phénomènes de résistance (carpocapse, puceron cendré, tavelure) et l'efficacité imparfaite des insecticides biologiques pourraient reconduire les arboriculteurs dans une impasse, quel que soit le système de protection. On voit bien que cette étude et ses résultats sont parfaitement cohérents avec les actions à mener pour développer la protection intégrée. En effet, l'échelle de travail concerne autant la parcelle que la bassin de production, notamment par le développement paysager des bordures des vergers (tableau 2). On est dans un schéma, à long terme, de réduction des risques de contournement des phénomènes de résistance dans des systèmes de production différenciés. Malheureusement, à court terme, la mévente des fruits réduit considérablement la marge économique de la production comme nous l'avons également signalé pour les pêches. Il est probable qu'un certain nombre de producteurs changera de métier avec le paradoxe de voir les importations de fruits augmenter, les fruits importés pouvant avoir subi des systèmes de protection avec de forts impacts négatifs sur l'environnement. Gageons que cette situation évolue favorablement pour que les solutions proposées ainsi que celles issues du développement d'autres études, puissent être mises en œuvre dans le futur.

De nouvelles pistes de recherche sont à mettre en œuvre à la fois pour garder des vergers dans le Sud-Est, pour limiter les atteintes à l'environnement et pour retrouver le rôle important des vergers sur la biodiversité. Des pistes sont proposées : changement dans la conduite de l'arbre, étude sur les défenses naturelles des plantes, impact de mosaïques de vergers de différentes espèces, concertations entre exploitants pour une lutte collective et prise en compte de l'aménagement paysager des zones arboricoles, pour mettre au point des scénarios visant à une régulation durable des bioagresseurs. Une collaboration des équipes INRA travaillant sur pommier et sur pêcher est actuellement en cours pour aborder ces thèmes de recherche.

Gestion des populations de mauvaises herbes et évaluation de systèmes de culture intégrés pour une réduction de la pollution par les herbicides

(programme coordonné par Bruno Chauvel, INRA Dijon).

Le programme de cette étude concerne la gestion des populations de mauvaises herbes à l'échelle du système de culture dans un objectif de réduction des quantités d'herbicides utilisées et du choix de substances actives à faible impact environnemental.

Les principaux résultats de ce travail sont :

- **la modélisation** de la levée des vulpins au champ par l'adaptation d'un modèle conçu pour les plantes cultivées pour alimenter une modélisation du cycle démographique de cette graminée adventice,
- **l'évaluation** expérimentale de stratégies de lutte intégrée contre le vulpin, qui associent labour, alternance de cultures d'hiver et de printemps (allongement des rotations), retard des dates de semis et réduction de l'emploi des herbicides. Ces stratégies ont montré leur efficacité dans les situations de populations de vulpins résistants aux herbicides de la famille des Fop. La diffusion pratique des enseignements issus de ces travaux est assurée

par les Instituts Techniques mais pas encore assez prise en charge par les agents du développement agricole (distribution et/ou Chambres d'Agriculture),

- **l'analyse par simulation** de l'effet de différentes stratégies de déclenchement de traitements herbicides sur des populations de vulpin et de pâturin annuel. On observe que le nombre d'applications d'herbicide est peu sensible au choix du seuil de déclenchement des traitements. Une évaluation plus poussée de la sensibilité du modèle à la succession culturale et à l'alternance de substances actives reste nécessaire pour confirmer ce résultat.
- **la construction** d'un système d'aide à la décision pour le désherbage des cultures annuelles : DECID'herb. L'intérêt novateur de ce travail est l'articulation entre connaissance experte et connaissance scientifique qui a permis de construire le logiciel. L'innovation est d'avoir pu greffer des règles de décision sur des bases de données.

Ce logiciel a pour vocation d'être une application WEB destinée dans un premier temps aux techniciens des Instituts participant à sa construction : ARVALIS – Institut du végétal, Céliom, ITL et ITB depuis 2005 et l'ACTA et l'UNIP à partir de 2006. C'est un outil d'aide au choix de désherbage à l'échelle de la parcelle agricole qui tient compte de l'itinéraire technique de la (ou des) campagne(s) précédente(s) et qui propose un programme de lutte contre les mauvaises herbes attendues ou présentes depuis la récolte du précédent jusqu'à la récolte de la culture.

DECID'herb comprend deux modules :

- un module permettant d'évaluer un risque malherbologique associé à chaque mauvaise herbe en fonction de ses caractéristiques biologiques et du système de culture prévu au cours des années à venir,
- un module de choix multicritère prenant en compte l'efficacité, le coût, le risque écotoxicologique, le risque de sélection de résistance et le calendrier de travail de l'agriculteur.

Ce logiciel est en phase de test et pourra être opérationnel en 2006. Une grande partie des données d'entrée permettant son fonctionnement (bases de données concernant l'efficacité des herbicides en fonction des stades des mauvaises herbes, de celui des plantes cultivées et des doses d'utilisation) est issue des programmes de travail des Instituts depuis de nombreuses années et est donc leur propriété. La possibilité d'extension de l'utilisation du logiciel à un large public de techniciens sera envisagée selon l'opérationnalité de l'outil.

L'intérêt de ce logiciel est de prendre en compte toutes les grandes cultures et les rotations. Néanmoins DECID'herb a encore quelques difficultés à surmonter. Il ne semble pas qu'il y ait consensus parmi les partenaires sur l'évaluation écotoxicologique de son deuxième module. Du fait de l'évolution rapide du marché des herbicides (plus de disparition que de création de solutions chimiques), l'actualisation des bases de données d'entrée prendra du temps et sera par conséquent onéreuse.

Cette étude participe au moins à trois niveaux des propositions destinées à développer la protection intégrée (tableau 2). Tout d'abord, le logiciel propose un ajustement tactique des interventions phytosanitaires. Les résultats de l'étude, et les enseignements proposés visent à la réduction à long terme de la pression des mauvaises herbes par la mise en place d'itinéraires techniques sur des rotations complètes. Enfin, la construction d'une base de données concernant les mauvaises herbes de toutes les grandes cultures ainsi que les moyens de lutte les plus appropriés concerne l'ensemble du territoire français.

Les éléments directement transférables sont pour le moment les enseignements issus des stratégies de désherbage incluant toutes les techniques culturales susceptibles de réduire la pression de la flore adventice dans le cadre de rotations. Ces stratégies, si elles sont nécessaires pour contourner les phénomènes de résistance sont également intéressantes pour diminuer l'utilisation des herbicides. Le conseil intégrant toutes les mesures préventives à associer pour lutter contre les mauvaises herbes en limitant l'utilisation des herbicides aura plus de chance d'atteindre l'agriculteur par les canaux habituels du développement

agricole. Un effort de diffusion important à destination des agents du développement agricole est nécessaire. Le contexte actuel, diminution du nombre de solutions chimiques, ralentissement important de l'innovation en matières de substances actives, cours peu élevé des cultures de vente et incertitude sur l'avenir du fonctionnement de la PAC, peut faciliter l'appropriation de ces nouvelles stratégies qui se voient néanmoins confrontée, notamment pour les techniques de travail du sol, à l'augmentation importante du coût du carburant. A moins que les agriculteurs aient la possibilité de produire eux même leur carburant ou que l'incorporation rapide et conséquente des biocarburants soit bientôt possible.

Les pistes de recherche à développer ou à compléter sont :

- **les phénomènes d'allélopathie** ont été abordés, notamment par le biais du choix des espèces lors de l'inter-culture. Là encore, il s'agit d'une piste intéressante pour faire baisser la pression d'adventices dans la rotation. Cette technique qui pourrait être intégrée dans les stratégies mentionnées ci-dessus renforcerait les possibilités de diminution de l'utilisation des herbicides. De nombreuses études ont été réalisées depuis plusieurs années en laboratoire dans un certain nombre de pays (Pays-Bas, Canada, Allemagne, Suède, Ecosse...) mais peu de résultats d'expérimentation en plein champ ou sur des rotations ont été publiés.
- **la poursuite du fonctionnement** des stocks semenciers pour améliorer les outils de simulation de levées des mauvaises herbes et des stratégies de lutte.

Evaluation et gestion de risques spatio-temporels de pullulation du Campagnol terrestre

(programme coordonné par Jean-François Cosson, INRA-IRD-CIRAD-ENSAM, Montpellier)

Cette étude, dont une partie des acquis a déjà fait l'objet d'applications pratiques, concerne la gestion des pullulations de campagnols terrestres dans les zones de moyenne montagne en Franche-Comté où la production agricole s'est spécialisée dans la production de fromages AOC et où l'essentiel de la SAU est en prairie permanente. Depuis les années 70, les prairies d'altitude subissent des cycles de pullulation de 6 ans. Quelques chiffres pour illustrer le contexte :

- des vagues de fortes densités de plusieurs centaines à plus de 1 000 campagnols/ha se propagent,
- la DRAF Franche-Comté a chiffré les pertes en 1998 (année d'un pic de pullulation) à 38 millions d'euros pour 1 200 exploitations,
- répétées sur plusieurs cycles de pullulation, les pertes peuvent atteindre 15 000 euros pour certaines exploitations.

Enfin, le risque sanitaire n'est pas à exclure : un lien entre les fortes densités de campagnols et les cas d'échinococcose alvéolaire humaine a été bien établi.

Dans les années 1970-1980, la lutte chimique à base de bromadiolone est réalisée à l'échelle parcellaire (pas de lutte concertée) sans prendre en compte son impact sur l'environnement. Plusieurs milliers d'hectares traités s'accompagnaient d'un fort taux d'empoisonnement d'espèces gibiers (sangliers, chevreuils), d'espèces prédateurs (renards, buses) et d'espèces protégées (milans royaux).

L'étude se propose de cibler l'utilisation de pesticides dans l'espace et le temps afin de diminuer les quantités utilisées et de réduire les effets indésirables sur les écosystèmes et a pu contribuer à la mise place d'actions de lutte concertées faisant appel à des techniques alternatives et complémentaires de l'utilisation de la bromadiolone.

La dynamique de pullulation spatio-temporelle a été étudiée à deux échelles : celle de la Franche Comté et celle du canton de Nozeroy afin de mettre plus finement en relation les modalités de la diffusion spatiale des campagnols avec certains éléments du paysage comme les haies.

Les principaux résultats concernent :

- La caractérisation de foyers de démarrage des pullulations. Les prairies fortement infestées par la taupe sont plus susceptibles d'être envahies par les campagnols. La disponibilité de vastes réseaux de galeries entretenus par les taupes est favorable à la dynamique spatiale du campagnol. Pendant la phase de croissance, près de 80 % des nouvelles colonies ont été trouvées dans le réseau des galeries de taupes alors que ce réseau n'occupait que 20 % de la surface étudiée. Un préalable à la lutte contre le campagnol est la surveillance des parcelles avec présence de taupes et la lutte précoce contre celles-ci : piégeage collectif, destruction mécanique des réseaux et gazage au phosphore d'hydrogène, sous réserve que cette dernière technique n'ait pas d'impact négatif sur l'environnement.
- La caractérisation des voies de diffusion. La modélisation de séries démographiques collectées en différentes localités a montré que la pullulation diffusait sous la forme d'une vague de propagation d'une dizaine de kilomètres par an. Localement, cette vitesse de propagation est freinée par la présence d'éléments boisés. La présence de zones boisées et de réseaux de haies ralentit significativement la vitesse de diffusion des pullulations. Ce résultat milite pour l'implantation de nouvelles haies et la restauration d'un paysage bocager qui malheureusement a largement régressé au cours des 20 dernières années.
- Les modalités de dispersion et de recolonisation des milieux. L'analyse des flux géniques des campagnols aux deux échelles spatiales de l'étude a montré que la dispersion variait au cours du cycle de pullulation. En période de décroissance des densités, et sur des populations en faible densité, la dispersion des populations résiduelles est très faible. En revanche quand les populations entrent en phase de croissance démographique, notamment au tout début de la pullulation, la dispersion des campagnols est importante. De manière pratique, cela signifie qu'il est illusoire de chercher à contrôler les populations en phase de croissance démographique, a fortiori lors du pic de pullulation, étant donné la forte dispersion des campagnols qui accélère la vitesse de recolonisation des milieux où la lutte a déjà été pratiquée. A contrario, la lutte contre les campagnols dans les milieux à faible densité de population aura un effet probablement durable.
- La mise au point d'un modèle prédictif de risque temporel d'entrée en pullulation à l'échelle d'une commune. Ce modèle simple semble robuste pour les communes situées dans la zone étudiée mais la modélisation est plus délicate pour celles situées aux marges de cette zone et dans certaines vallées. Les communes sont considérées comme des entités indépendantes mais c'est grâce à cette caractérisation que la mise en relation avec les données relatives au paysage a été la plus fructueuse. L'utilisation du modèle pourrait simplifier l'avertissement agricole pour organiser la lutte contre les campagnols.

Avec cette étude, nous retrouvons deux phases indispensables du développement de la protection intégrée (tableau 2): celle de l'itinéraire technique associé à une lutte chimique à l'échelle de la campagne, et celle de la réduction de la pression d'un ravageur à plus long terme par une stratégie globale de lutte. Cela est d'autant plus intéressant que l'échelle spatiale de ces choix tactiques et stratégiques peut être le territoire communal mais vise également la grande région.

Le transfert des résultats de cette étude a déjà permis de repenser la lutte contre les campagnols en Franche-Comté. Ainsi, un projet de lutte raisonnée, sous la forme d'un contrat de 5 ans passé avec l'agriculteur, a été élaboré par la FREDON Franche-Comté. L'utilisation de la bromadiolone est limitée à la lutte préventive sur les zones où la population est à très basse densité. Le contrat associe des méthodes de lutte alternative : lutte contre les taupes, travail du sol dans les parcelles où les réseaux de taupe couvrent plus de 10 % de la surface, mise en place ou maintien des structures boisées (bosquets, haies, groupes d'arbres).

La lutte chimique curative, sur des populations en forte densité, est très réglementée.

La poursuite des recherches a pour objectif l'amélioration du modèle prédictif de risque temporel de pullulation par la prise en compte des flux de diffusion entre les communes.

L'approche «diffusion-réaction» et/ou l'utilisation d'«automates cellulaires » permettra d'améliorer la valeur prédictive du modèle qui pourra, à terme simplifier l'avertissement agricole à l'échelle de toute la région.

Utilisation et transfert de produits phytosanitaires dans un bassin urbanisé (programme coordonné par Jean-Marie Mouchel, ENPC-ENGREF-UPVM, Marne La Vallée).

Cette étude originale aborde un thème très peu développé : les transferts de pesticides dans les bassins versants urbanisés. Les résultats du suivi des contaminations sont très instructifs mais l'intérêt principal du travail réside dans l'analyse des actions d'animation, de sensibilisation et de réduction de l'utilisation des herbicides par les collectivités et les particuliers.

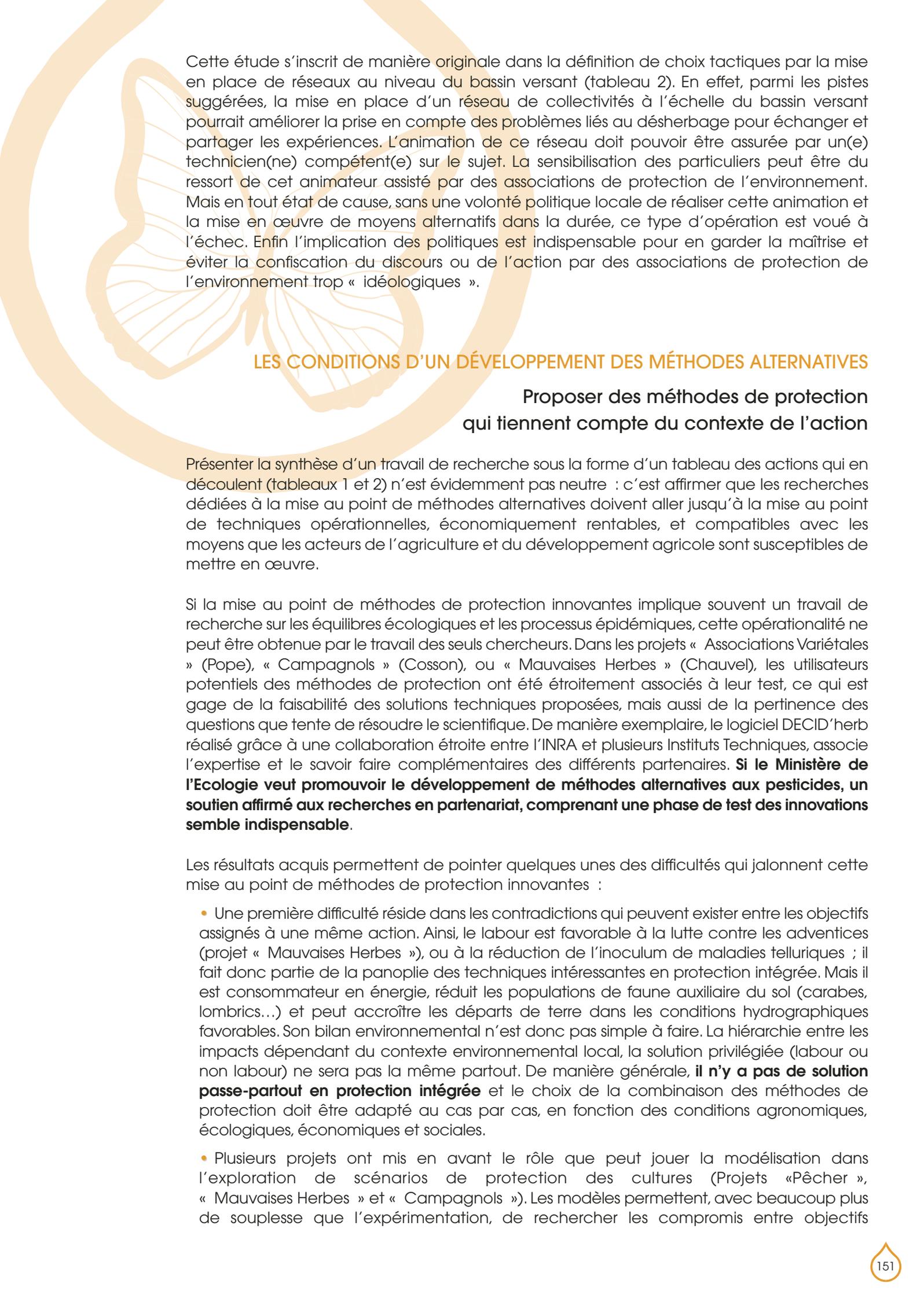
Les enquêtes réalisées ont permis de vérifier l'utilisation de produits typiquement urbains comme le glyphosate, le diuron, l'aminotriazole, le mécoprop, le dichlorprop ou le bromacile. Sur l'ensemble du bassin de 210 ha, dont 36 ha de la surface est agricole, les quantités appliquées en 2000 étaient environ, en moyenne, de 1 g/ha. 41 % des quantités étaient dues à l'activité agricole et pour ce qui concerne le secteur urbain, 31 % étaient le fait des jardiniers amateurs, 21 % provenaient des activités de sociétés prestataires de service pour espaces collectifs de lotissements privés et 8 % des services techniques municipaux.

Les enquêtes ont permis également de mesurer le niveau de sensibilité des utilisateurs à la contamination des eaux. Les particuliers ne sont pas insensibles aux problèmes posés par les pesticides, mais dès que le niveau de contrainte lors de leur utilisation augmente, port de gants par exemple, ou calcul précis de la dose par rapport à la surface, la prise de conscience s'estompe. Ils sont demandeurs d'informations techniques de haut niveau qui dépassent les simples recommandations d'utilisation pour l'entretien de leur jardin. Comme ces informations leur sont délivrées par les vendeurs de pesticides des magasins spécialisés, on peut douter de la délivrance de messages encourageant des techniques alternatives.

Les services techniques des collectivités sont plus faciles à sensibiliser pourvu que les responsables politiques de ces collectivités aient été rencontrés et également sensibilisés. Mais quand des efforts de désherbages alternatifs sont mis en œuvre, ils apparaissent comme plus coûteux et moins performants. Cela peut conduire la commune à déléguer le désherbage à une entreprise de prestation de service qui n'utilisera que des herbicides de synthèse. L'honneur est sauf : ce n'est plus la commune qui pollue !

	Parcelle ou îlot de parcelles	Bassin de production, petite région	Région, pays, UE
Ajustement tactique des interventions phytosanitaires	Ajustement des traitements herbicides grâce à Décidherb (Chauvel) Déclenchement de traitements fongicides sur observation de symptômes (Pope)	Mise en place de réseaux de collectivités au niveau de bassins versants pour échanger et partager des expériences (Mouchel)	Indicateurs environnementaux (Sauphanor) Information des jardiniers amateurs (Mouchel) Synthèse de connaissances expertes et construction de BDD pour l'aide à la décision (Chauvel)
Réduction des populations ou de leur nuisibilité par des stratégies de campagne (itinéraire technique)	Association de variétés de blé et ITK bas intrants, pour la maîtrise des maladies foliaires (Pope), ITK du pêcher pour la maîtrise du monilia (Lescouret)	Réduction du contournement des résistances variétales grâce aux associations (Pope) Diversification des types de vergers (Sauphanor)	Proposition de procédures pour choisir les variétés de blé qui peuvent être associées (Pope)
Réduction des risques de parasites ou adventices par des stratégies de long terme	Confusion sexuelle et agriculture biologique pour favoriser oiseaux et auxiliaires (Sauphanor) Choix du travail du sol, des rotations et des intercultures pour maîtriser les adventices résistantes aux herbicides (Chauvel)	Gestion écologique des populations de campagnols terrestres; conduite des systèmes de production et agencement des motifs paysagers (Cosson)	Soutien du MEDD aux recherches sur les méthodes alternatives et la protection intégrée ; organisation du Colloque; Nécessité de poursuivre l'effort de recherche-développement et de communication

tableau 2 : ventilation, dans le tableau précédent, des propositions pratiques issues des cas d'étude



Cette étude s'inscrit de manière originale dans la définition de choix tactiques par la mise en place de réseaux au niveau du bassin versant (tableau 2). En effet, parmi les pistes suggérées, la mise en place d'un réseau de collectivités à l'échelle du bassin versant pourrait améliorer la prise en compte des problèmes liés au désherbage pour échanger et partager les expériences. L'animation de ce réseau doit pouvoir être assurée par un(e) technicien(ne) compétent(e) sur le sujet. La sensibilisation des particuliers peut être du ressort de cet animateur assisté par des associations de protection de l'environnement. Mais en tout état de cause, sans une volonté politique locale de réaliser cette animation et la mise en œuvre de moyens alternatifs dans la durée, ce type d'opération est voué à l'échec. Enfin l'implication des politiques est indispensable pour en garder la maîtrise et éviter la confiscation du discours ou de l'action par des associations de protection de l'environnement trop « idéologiques ».

LES CONDITIONS D'UN DÉVELOPPEMENT DES MÉTHODES ALTERNATIVES

Proposer des méthodes de protection qui tiennent compte du contexte de l'action

Présenter la synthèse d'un travail de recherche sous la forme d'un tableau des actions qui en découlent (tableaux 1 et 2) n'est évidemment pas neutre : c'est affirmer que les recherches dédiées à la mise au point de méthodes alternatives doivent aller jusqu'à la mise au point de techniques opérationnelles, économiquement rentables, et compatibles avec les moyens que les acteurs de l'agriculture et du développement agricole sont susceptibles de mettre en œuvre.

Si la mise au point de méthodes de protection innovantes implique souvent un travail de recherche sur les équilibres écologiques et les processus épidémiques, cette opérationnalité ne peut être obtenue par le travail des seuls chercheurs. Dans les projets « Associations Variétales » (Pope), « Campagnols » (Cosson), ou « Mauvaises Herbes » (Chauvel), les utilisateurs potentiels des méthodes de protection ont été étroitement associés à leur test, ce qui est gage de la faisabilité des solutions techniques proposées, mais aussi de la pertinence des questions que tente de résoudre le scientifique. De manière exemplaire, le logiciel DECID'herb réalisé grâce à une collaboration étroite entre l'INRA et plusieurs Instituts Techniques, associe l'expertise et le savoir faire complémentaires des différents partenaires. **Si le Ministère de l'Ecologie veut promouvoir le développement de méthodes alternatives aux pesticides, un soutien affirmé aux recherches en partenariat, comprenant une phase de test des innovations semble indispensable.**

Les résultats acquis permettent de pointer quelques unes des difficultés qui jalonnent cette mise au point de méthodes de protection innovantes :

- Une première difficulté réside dans les contradictions qui peuvent exister entre les objectifs assignés à une même action. Ainsi, le labour est favorable à la lutte contre les adventices (projet « Mauvaises Herbes »), ou à la réduction de l'inoculum de maladies telluriques ; il fait donc partie de la panoplie des techniques intéressantes en protection intégrée. Mais il est consommateur en énergie, réduit les populations de faune auxiliaire du sol (carabes, lombrics...) et peut accroître les dépôts de terre dans les conditions hydrographiques favorables. Son bilan environnemental n'est donc pas simple à faire. La hiérarchie entre les impacts dépendant du contexte environnemental local, la solution privilégiée (labour ou non labour) ne sera pas la même partout. De manière générale, **il n'y a pas de solution passe-partout en protection intégrée** et le choix de la combinaison des méthodes de protection doit être adapté au cas par cas, en fonction des conditions agronomiques, écologiques, économiques et sociales.
- Plusieurs projets ont mis en avant le rôle que peut jouer la modélisation dans l'exploration de scénarios de protection des cultures (Projets « Pêcher », « Mauvaises Herbes » et « Campagnols »). Les modèles permettent, avec beaucoup plus de souplesse que l'expérimentation, de rechercher les compromis entre objectifs

contradictoires soulevés dans le point précédent ; ils permettent également d'explorer des scénarios de gestion spatiale des systèmes de production ou des paysages. Cependant, on relèvera que les projets ou parties de projets basés sur la modélisation n'ont pas abouti à des résultats opérationnels dans le temps du programme, au contraire des études expérimentales ou des analyses in situ. Si la modélisation est puissante, elle repose sur un travail de longue haleine, beaucoup plus long que la durée de financement classique des programmes sur appel d'offres. Il faut attirer l'attention des organisations de R&D sur **la nécessité d'assurer, par de moyens internes , la pérennité des programmes de modélisation.**

- La protection intégrée est associée, dans l'inconscient collectif, à une surveillance « serrée » des cultures et à un accroissement de la technicité et de la charge mentale de l'agriculteur. Les acquis du programmes, et en particulier les projets qui privilégient les actions d'ordre stratégique réduisant le risque (tableaux 1 et 2), montrent que la protection intégrée peut être de mise en œuvre aussi aisée que la protection chimique. A l'extrême, on peut citer les travaux sur les itinéraires techniques à bas intrants pour variétés de blé rustiques⁵ où l'un des systèmes testés ne comprend aucun traitement fongicide ni régulateur de croissance, et ne nécessite donc aucune surveillance de la culture pour déclencher ces interventions : grâce aux résistances variétales et à l'ajustement strict des densités de semis et fertilisation azotée, ces impasses restent compatibles avec l'obtention de marges brutes satisfaisantes, et n'entraînent pas d'accroissement de la variance du rendement ou de la marge. Le challenge que doit relever la R&D est de proposer chaque fois que possible, **des systèmes de protection intégrée aussi simples et fiables que la lutte chimique.** La facilité d'utilisation et l'efficacité des produits phytosanitaires place la barre très haut.

Concevoir et mettre en œuvre des politiques publiques incitatives

Les politiques publiques, agricoles et environnementales ont un rôle important à jouer dans la promotion des méthodes alternatives. Plusieurs voies sont explorées, dont nous ne discuterons pas ici des efficacités comparées⁶ : instruments ciblés d'internalisation des externalités (réglementation, taxation plus ou moins lourde des pesticides, contrats permettant de subventionner des pratiques favorables à l'environnement), conditionnalité environnementale des aides PAC,... La connaissance que nous avons maintenant des principes généraux de la protection intégrée, illustrés sur les cas développés dans le programme, nous permet de mieux cadrer ce que pourraient être des instruments de politique publique favorables à la réduction de l'usage des pesticides :

- les instruments généralement privilégiés par les politiques publiques cherchent à agir sur les pratiques des seuls agriculteurs ; or, le développement de la protection intégrée nécessite la mobilisation de nombreux acteurs, de la même manière que l'orientation vers la protection chimique a résulté d'une dynamique collective. Il faudrait se demander quels seront les acteurs-clef du développement de la protection intégrée (ou quels sont les acteurs qui favorisent encore aujourd'hui le primat des pesticides). Par exemple, comme le souligne le projet « Bassin urbanisé » (resp. J.M. Mouchel), le conseil phytosanitaire est le plus souvent délivré par les entreprises qui vendent les pesticides. En agriculture, ce sont les organismes de collecte de produits agricoles qui jouent ce rôle; le conseil technique est pour ces organismes à la fois un moyen de maintenir le contact avec les agriculteurs (fidéliser) et d'obtenir la qualité de produits qu'ils recherchent. **Quels instruments seraient susceptibles d'infléchir la stratégie de ces entreprises vers la Protection Intégrée ?** En grande culture, comment favoriser la promotion, par ces entreprises, des variétés résistantes aux maladies ou des associations variétales? L'action auprès des seuls agriculteurs trouve également sa limite dès lors que la protection doit être coordonnée au niveau territorial (colonne 2 du tableau 1). On en a vu des exemples dans les projets « Pommier » ou « Campagnols ». **Pour gérer l'organisation spatiale des résistances variétales ou des systèmes de culture au niveau des bassins de production, des dispositifs d'action collective, initiés et soutenus par**

5 Voir note 2

6 Voir la synthèse réalisée dans le cadre de l'expertise collective INRA ATEPE (Agriculture, Territoire, Environnement dans les Politiques Européennes), qui fait le point sur la relation entre les politiques publiques passées et les nuisances environnementales observées aujourd'hui et analyse les points forts et points faibles des instruments disponibles. (Les dossiers de l'Environnement INRA, 23, 2003)

les pouvoirs publics, tels que ceux qui existent pour la gestion de l'eau (SAGE) ou de la biodiversité (Natura 2000) **devront être imaginés**.

- La notion de « Bonne Pratique Agricole » est fréquemment employée dans les textes réglementaires visant à la réduction des nuisances environnementales de l'agriculture, (Directive Nitrate, Eco-conditionnalité...), aussi bien que dans les démarches se référant à l'Agriculture Raisonnée⁷. Cette notion a le mérite d'être facilement compréhensible : elle correspond à ce qu'il faut faire pour concilier intérêt économique et maîtrise des impacts environnementaux ; a contrario, on suppose que s'éloigner de la Bonne Pratique suscite des nuisances. Les codes de Bonnes Pratiques sont définis, pour des raisons d'efficacité, sur des territoires de très grande taille, le pays, la région ou la « zone vulnérable », territoires caractérisés par une très grande diversité des situations agronomiques. Il en résulte que cette notion semble difficilement applicable à la promotion de la protection intégrée (PI) : d'une part, la PI repose sur la combinaison de différents moyens de lutte, alors que les BPA sont codifiées au niveau de la technique agricole élémentaire. D'autre part, la PI suppose, pour être efficace, une adaptation des pratiques au cas par cas, alors que les BPA sont le plus souvent formulées de manière normative. Une réflexion approfondie sur la manière de formuler les codes de Bonnes Pratiques dans la réglementation ou les contrats semble donc indispensable avant que ceux-ci puissent assurer la promotion des méthodes alternatives de protection des plantes.

- Le tableau 1 et le projet « Associations Variétales » mettent en avant l'importance, dans les stratégies de protection intégrée, des variétés résistantes aux maladies. Or, pour la plupart des espèces cultivées, le nombre de variétés très résistantes disponibles au catalogue reste faible. Pour que ce nombre augmente de manière significative, il faudrait, en fait, sortir d'un cercle vicieux : il faut de nombreuses années pour sélectionner une variété ; le sélectionneur base son schéma de sélection sur une anticipation de la demande, toujours très délicate. Si les pouvoirs publics veulent que les sélectionneurs préparent des variétés contribuant à la réduction de l'emploi des pesticides, il sera essentiel qu'ils adressent un message fort et clair indiquant qu'il y aura un marché pour ces variétés quand la sélection sera achevée. Aujourd'hui, il n'y a pas de visibilité à long terme des politiques publiques, donc pas d'incitation à l'audace, donc pas beaucoup de variétés résistantes... **La faible durabilité des politiques publiques est l'un des premiers obstacles à la mise en place d'une agriculture durable.**

Améliorer le transfert et la formation

On l'aura compris, la protection intégrée ne s'improvise pas. L'étude réalisée dans le projet « Bassin Urbanisé » montre l'importance de la formation, et de l'information des utilisateurs de pesticides. Les méthodes alternatives, quant à elles, nécessitent un apprentissage ; il n'est pas si facile de passer d'un raisonnement bjectif (un bio-agresseur / une matière active spécifique) à un raisonnement systémique, où tout bio-agresseur nécessite la mise en œuvre de plusieurs actions coordonnées, et où toute action a de multiples conséquences. Quant au passage de la parcelle, lieu privilégié d'accumulation de références, à l'exploitation, où doivent s'élaborer des compromis pour le partage de ressources limitées, personne ne sait vraiment comment le gérer... L'organisation actuelle du conseil en matière de protection phytosanitaire est totalement inadaptée à ces challenges : Comment déconnecter le conseil des ventes de pesticides, créer de nouvelles compétences dans le développement agricole, organiser des cercles d'agriculteurs travaillant ensemble à la mise au point de leurs systèmes ?...

Au niveau de la formation initiale, il sera bon d'apprendre aux futurs acteurs de la protection intégrée à se méfier des recettes passe-partout, à élaborer leurs propres solutions... Un désenclavement de l'enseignement de protection des cultures, qui devrait fusionner avec celui d'agronomie⁸, semble inévitable.

Tout cela ne sera sans doute pas simple, suscitera des résistances, mais peut-on encore se permettre d'en faire l'économie ?

7 Pour une analyse critique de l'utilisation de la notion de Bonne Pratique Agricole dans l'agriculture Raisonnée, voir en particulier Meynard J.M., 2002. Du code des bonnes pratiques au management environnemental. Oléoscope, 68, 15-19



APR 1999

GESTION DES POPULATIONS DE MAUVAISES HERBES ET ÉVALUATION DE SYSTÈMES DE CULTURE INTÉGRÉS POUR UNE RÉDUCTION DE LA POLLUTION PAR LES TRAITEMENTS HERBICIDES

COORDINATEUR SCIENTIFIQUE :

Bruno CHAUVEL

UMR INRA - ENESAD - Univ.
de Bourgogne Biologie et
Gestion des Adventices

17 rue Sully
BP 86510
21065 Dijon Cedex,
France

Tél. 03 80 69 30 39
Fax. 03 80 69 32 22
chauvel@dijon.inra.fr

Le projet présenté par l'UMR Biologie et Gestion des Adventices reposait sur le concept d'une gestion des populations de mauvaises herbes à l'échelle du système de culture dans un objectif de **réduction des quantités d'herbicides** épanchés sur les parcelles et du choix de matières actives **à faible impact environnemental**.

Si la réduction préventive de la quantité de matières actives utilisées est théoriquement la voie idéale à la limitation l'utilisation des pesticides, elle comporte néanmoins un certain nombre de défauts :

- La **prévention** (prophylaxie - étude des effets des pratiques non chimiques sur la démographie des plantes) est basée essentiellement sur une meilleure connaissance de la biologie des mauvaises herbes, qui sont en majorité des plantes annuelles, à stratégie démographique basée sur les stocks de semences dans le sol. Les résultats expérimentaux, sur de tels organismes biologiques, sont obtenus sur des échelles de temps longues, avec des résultats souvent peu spectaculaires, et de plus peu généralisables d'une espèce à l'autre. De ce fait, l'acquisition de nouvelles connaissances est souvent nécessaire et le développement de modèles démographiques constitue une étape obligatoire. Or cette étape de modélisation est plus ou moins complexe et pas toujours très accessible.
- La prévention implique donc la mise en place de pratiques agronomiques classiques, pas toujours novatrices, peu parlantes pour le non spécialistes, généralement efficaces sur le moyen terme et difficilement présentables au grand public (par rapport à une réglementation « bande enherbée » par exemple qui est beaucoup plus « parlante »).
- La prévention n'est pas directement créatrice d'emplois, de technologies par rapport par exemple aux procédés d'épuration des eaux ou de détection des molécules herbicides.

L'approche « mauvaise herbe » dans la réduction des risques liés aux herbicides n'est donc pas une évidence. Pour l'anecdote, je voudrais vous rappeler, qu'au séminaire organisé par le MATE à Arcachon en 2001, sur la douzaine d'exposés traitant des herbicides, un autre seul orateur avait prononcé le mot de « mauvaise herbe » montrant que le problème des herbicides était plus lié à leur présence dans l'eau (= **conséquence**) qu'à la raison pour laquelle on utilise ces produits, c'est-à-dire les mauvaises herbes (= **cause**).

De fait, dans l'absolu, on peut en effet comprendre qu'un maire ou qu'un administré soit plus sensible à la mise en place d'un système d'épuration des molécules herbicides qu'à la généralisation de pratiques intégrées de désherbage sur les parcelles de sa commune.

ELÉMENTS SUSCEPTIBLES D'INTÉRESSER DES GESTIONNAIRES DE L'ENVIRONNEMENT

Deux points principaux issus de nos travaux peuvent intéresser des gestionnaires de l'environnement (dans notre cas, essentiellement les techniciens de Chambre d'Agriculture et les ingénieurs ou techniciens des Instituts Agricoles)

- **des résultats expérimentaux** : utilisation de pratiques culturales efficaces dans la gestion de populations de mauvaises herbes difficiles à désherber chimiquement, ou l'acquisition de connaissances sur des caractéristiques biologiques (taux de décroissance des semences dans le sol, date de levée préférentielle, ...) d'une espèce adventice à problème
- **utilisation du système d'aide à la décision** (Decid'herb)

Mais la limitation de l'utilisation des pesticides n'est pas une décision sans conséquences. Dans le cas du désherbage, la réduction de la quantité des herbicides épandus (disparition des produits par la directive européenne, limitation obligatoire ou raisonnée des doses) va impliquer une augmentation de la densité de mauvaises si des pratiques agronomiques complémentaires ne sont pas mises en place.

De plus, comme dans tous les écosystèmes, les interactions entre pratiques et milieu peuvent compliquer le diagnostic :

- une pratique comme celle du labour (très efficace dans le contrôle des graminées adventices) n'est pas sans conséquence écologiques (érosion, destruction des mycorhizes, réduction de la biomasse de vers de terre, participation à l'effet de serre, ...). Elle n'est donc pas généralisable et doit donc être raisonnée par le gestionnaire et choisie en fonction de critères précis (fragilité du milieu, estimation du problème malherbologique, ...).
- une impasse de désherbage, du fait de l'abondance des mauvaises herbes qu'elle peut potentiellement générer, peut impliquer une utilisation supplémentaire de fongicides liées «au climat » lié à la forte présence d'adventices dans le couvert. Quelle est alors la priorité du gestionnaire ?

Enfin dans des cas très particuliers de protection d'espèces rares (*Directive Oiseaux*) à caractère patrimoniale (outarde, busard), voire quelques espèces en voie de raréfaction de mauvaises herbes messicoles (bleuet ?, nielle, adonies, ...) à forte valeur sociétale (pas encore de législation), la connaissance des effets des pratiques sur les mauvaises herbes peut se révéler fondamentale pour favoriser la dynamique des espèces que l'ensemble des pratiques de l'agriculture intensive a fait pour certaines d'entre elles quasiment disparaître. A l'inverse, de tels travaux peuvent aussi permettre la gestion raisonnée d'espèces dites envahissantes dans les milieux cultivés qui peuvent poser des problèmes agronomiques (vulpie, orobanche) ou de santé publique (ambroisie).

Eléments immédiatement transférables

Les données sur les caractéristiques démographiques des espèces (nombre de semences produites, durée de vie des semences dans le sol) peuvent directement orienter les prises de décision des techniciens.

Les résultats des essais de systèmes de culture, vulgarisés dans des revues agricoles, ont pu être directement utilisés par les techniciens de Chambre ou de coopératives agricoles. Chaque année, au moins trois chercheurs de l'unité participent à des formations auprès de groupes d'agriculteurs où sont présentés les résultats de nos travaux.

Ces pratiques agronomiques transférables peuvent être déclinées à plusieurs niveaux

Modification des pratiques culturales.

• Modification de la date de semis

Cette pratique a fait l'objet de travaux dans le cadre du contrat MATE (expérimentation Vulpin-Lux). Le changement de date de semis a aussi été testé sur la culture du colza (Ferré *et al.*, 2000). L'objectif de cette pratique est minimiser la compétition envers les cultures qui s'implantent et réduire les besoins d'efforts de répression chimique pour la saison.

AVANTAGE	INCONVÉNIENT
<ul style="list-style-type: none">• Permet un positionnement favorable de la date de levée de la culture	<ul style="list-style-type: none">• Efficacité dépendante du climat• Nécessite que l'agriculteur utilise des variétés adaptées• Risque de semis en mauvaises conditions

Ferré F., Doré T., Dejoux J.F., Meynard J.M., Grandeau G., 2000. Evolution quantitative de la flore adventice dicotylédone au cours du cycle du colza pour différentes dates de semis et niveaux d'azote disponible au semis. In "XIème colloque international sur la biologie des mauvaises herbes", 6-8/09/00, Dijon, pp. 367-37, AFPP, Paris

• Pratiques de faux-semis

Cette pratique consiste à travailler le sol aussi finement que pour un semis et à laisser les semences de mauvaises herbes germer. Quand les plantules sont sorties, le sol est à nouveau travaillé pour préparer le semis ou pour refaire un nouveau faux-semis. L'intervalle de temps entre les travaux doit favoriser un maximum de levée de plantules pour ainsi assurer le succès de la technique.

Généralement, le faux-semis ne modifie la composition floristique mais diminue la densité de chacune des espèces. Cette pratique est très liée à la pratique de semis différé.

AVANTAGE	INCONVÉNIENT
<ul style="list-style-type: none">• Permet un contrôle chimique ou non chimique des populations de mauvaises herbes avant installation de la culture	<ul style="list-style-type: none">• Efficacité dépendante du climat (pluie permettant la levée des adventices)• Dégradation potentielle de la structure du sol

Bond W. et P.J. Baker. 1990. Patterns of weed emergence following soil cultivation and its implications for weed control in vegetable crops. In: Organic and low input agriculture (ed R. Unwin) BCPC Mono. 45:63-68.

• Retournement du sol

Le travail du sol par un labour contribue à l'enfouissement des semences produites par les mauvaises herbes au cours de la campagne précédente. La meilleure efficacité d'enfouissement est obtenue avec le labour, plus efficace que les travaux profonds sans retournement, eux-mêmes plus efficaces que les travaux superficiels.

Toutefois cette pratique (au même titre que toutes les interventions culturales) doit être raisonnée en fonction de la flore adventice présente, de la culture suivante, de la rotation mise en place. Des travaux montrent que des espèces à stock semencier persistant sont plutôt favorisées en labour et défavorisées en non-labour.

AVANTAGE	INCONVÉNIENT
<ul style="list-style-type: none"> • Enfouissement des semences produites au cours de la campagne précédente 	<ul style="list-style-type: none"> • Pratique coûteuse (temps, argent) • Dépendant de la flore adventice en place • Impact écologique négatif sur les «auxiliaires» • Risque de dégradation des sols (érosion)

Modification de la rotation.

Toutes les modifications des pratiques précédemment citées sont à intégrer dans une gestion de la flore adventice à l'échelle de la rotation en alternant les cultures (hiver/printemps ; céréales/dicotylédones, ...) de manière à éviter la sélection de mauvaises herbes spécialisées, agressives et donc difficiles à combattre autrement que par la lutte chimique.

Les freins à cette « alternance » des cultures sont nombreux (facilité de travail pour l'agriculteur, stockage des coopératives, cahier de charges strictes des centrales d'achat, potentialité des terres, charges d'achat d'outils supplémentaires, ...). Cette évolution indispensable devrait être favorisée dans un contexte d'aides mieux dirigées.

Toutefois, on peut constater dans le cas précis travaillé au cours du contrat MATE (gestion des vulpins résistants par des pratiques non chimiques) que si le système préconisé (labour, faux-semis, ...) a semblé fonctionner le temps d'une rotation, la mise sur le marché récent d'un herbicide efficace sur les populations résistantes a impliqué un abandon quasi immédiat par les agriculteurs locaux des pratiques agronomiques de prophylaxie. Ce retour «au tout chimique» est facilement explicable pour des raisons d'économie de temps de travail et des limitations des frais engendrés par les pratiques agronomiques. L'attitude des agriculteurs est aussi explicable par la confiance absolue dans la capacité des sociétés phytosanitaires à produire de nouveaux produits et ceci malgré les avertissements de type agronomiques (résistance) ou des sociétés elles-mêmes (très peu de nouveaux produits à attendre). Enfin, les pratiques de prophylaxie, si elles ne sont pas intégrées dans un raisonnement global, peuvent en cas de climats défavorables, peuvent être peu ou pas efficaces, voire même pénalisantes pour la culture. Aussi, les changements de pratiques, aussi efficaces soient-elles, ne seront pas simples à imposer.

Éléments transférables à moyen terme : Logiciel DECID'herb

DECID'herb est un logiciel d'aide au choix d'une méthode de lutte contre les mauvaises herbes, qui a été élaboré dans le cadre d'une agriculture plus respectueuse de l'environnement

DECID'herb est une application WEB dans le cadre d'un partenariat avec des instituts agricoles (ARVALIS et CETIOM). Ce logiciel a pour objectif d'aider au choix d'une méthode de lutte contre les mauvaises herbes en grande culture. Les utilisateurs potentiels sont des acteurs amenés à prendre des décisions à l'échelle de la parcelle agricole : agriculteurs, préconisateurs ou expérimentateurs de systèmes de culture. La décision concerne le programme de lutte à l'échelle de la campagne agricole, depuis la récolte du précédent jusqu'à la récolte de la culture. DECID'herb peut être utilisé de façon séquentielle au cours de la campagne, avec un premier choix de programme pendant l'inter-culture, avant le semis, et une révision du programme en cours de campagne.

Cette application web est constituée de deux modules :

- Le module 1 permet de déterminer un «risque malherbologique» associé à chaque espèce présente (observée ou attendue) sur la parcelle, de ses caractéristiques biologiques propres, et du système de culture prévu au cours des années à venir (rotation, travail du sol)
- Le module 2 est un module de choix multicritère dans une liste de programmes candidats. Les critères retenus pour cette phase de choix sont (i) l'efficacité (avec un poids fort pour l'efficacité vis-à-vis des espèces à fort risque malherbologique), (ii) le coût, (iii) le risque écotoxicologique (lui-même évalué en fonction des caractéristiques parcellaires), (iv) le risque de sélection de résistances, et (v) l'intégration du programme dans le calendrier de travail de l'agriculteur. Les programmes candidats résultent d'une combinaison de 1 à 6 interventions élémentaires.

DECID'herb est en phase de test dans le cadre de programmes de recherche-développement sur la Protection Intégrée et devrait être opérationnel à la fin de l'année 2005.

Il est important de noter que les principales difficultés rencontrées pour la mise au point du logiciel DECID'herb sont des difficultés d'ordre juridique. En effet, il était prévu que le logiciel puisse interroger des bases de données 'efficacité des herbicides sur les différentes espèces adventices', propriétés des Instituts Techniques ce qui a posé de réels problèmes du fait de l'évolution récente du statut de ces instituts.

Éléments transférables à plus long terme

L'évolution actuelle très rapide du contexte agricole ne permet pas de savoir quels seront les éléments encore utilisables dans le futur. Le logiciel **DECID'herb** est conçu pour évoluer au cours du temps par la mise à jour des bases de données.

Les approches sur la mise en place **de couverts à action allélopathique** sont innovantes et seront poursuivies dans le cadre de l'essai «système» réalisé sur le domaine INRA. Mais ces résultats restent expérimentaux et un transfert de telles pratiques n'est pas envisagé dans un avenir proche. L'introduction de telles pratiques est liée d'une part à l'efficacité de l'activité herbicide de ces couverts (bonne sélectivité vis à vis de la plante cultivée, gestion de la matière organique, ...) et d'autre part au contexte législatif qui favoriserait ce type de démarches. Bien que n'étant certainement pas appelée à devenir une pratique majeure, elle pourrait dans certains systèmes de culture participer au contrôle des populations d'adventices.

THÉMATIQUES À ABORDER DANS LE FUTUR

Les futures prises de décision seront totalement liées au contexte agricole des prochaines années. La nouvelle PAC 2005 a un pilier environnemental renforcé, mais elle est accompagnée d'un découplage des aides qui ne va pas forcément inciter les agriculteurs à prendre des «risques environnementaux».

Le succès du désherbage chimique était lié à l'efficacité, à la facilité, à la rapidité et au relativement faible coût de cette pratique. Le développement des pratiques non chimiques plus respectueuses de l'environnement va impliquer a contrario une augmentation des coûts et du temps de travail qui ne sera guère compatible avec le contexte économique. Quelles vont être les compensations écologiques et surtout comment va-t-on évaluer la qualité environnementale d'une parcelle ?

Parmi les nombreuses interrogations actuelles, la notion même de mauvaise herbe est rediscutée. Quel est le statut des «mauvaises herbes» si l'on considère le champ autrement que comme un espace de production ?

Dans le cadre d'une gestion écologique des agrosystèmes, va-t-on devoir distinguer des

«**bonnes**» mauvaises herbes choisies pour des raisons sociétales (couleur, symbolique, ...), mais surtout (du moins faut-il l'espérer) pour des raisons écologiques (importance dans la chaîne alimentaire) et botaniques (rareté, valeur patrimoniale), des «**mauvaises**» mauvaises herbes (plantes envahissantes, allergisantes, ...) qu'il faudra continuer à détruire ?

Tout ceci implique la mise en cadre législatif relativement stable à l'intérieur duquel il sera possible de proposer des pratiques plus ou moins innovantes favorisant une approche intégrée (écologique ?) des systèmes agricoles. Parmi les nombreuses futures questions, le problème des « indicateurs environnementaux » semble très important afin de pouvoir valider les pratiques des agriculteurs.

PUBLICATIONS ET VALORISATIONS

Revue à comité de lecture – Colloque International

- Chauvel B., Guillemain J.P., Colbach N., Gasquez J. 2001. Evaluation of cropping systems for management of herbicide resistant populations of black-grass (*Alopecurus myosuroides* Huds.). *Crop Protection*, 20, 127-137.
- CHAUVEL B., Jouy L., Verdier J.L., GUILLEMIN J.P. 2000. Stratégie de lutte contre les vulpins résistants : conséquences économiques. *Perspectives Agricoles*, 256, 72-78.
- Colbach N., Chauvel B., DÜRR C., RICHARD G. 2002. Effect of environmental conditions on blackgrass (*Alopecurus myosuroides* Huds.). I. Effect of temperature, storage conditions and light. *Weed Research*, 42, 210-221.
- Colbach N., Chauvel B. 2004. AlomySys: a model of the effect of cropping systems on weed demography. Example of blackgrass (*Alopecurus myosuroides* Huds.) Proc. 8th ESA Congress, Copenhagen, Denmark, 11-15 July 2004 (poster)
- Colbach N., Dürr C. 2003. Effects of seed production and storage conditions on blackgrass (*Alopecurus myosuroides* Huds.) germination and shoot elongation with time. *Weed Science* 51, 708-717.
- Colbach N., Dürr C., Roger-Estrade J., Caneill J. 2005. How to model the effects of farming practices on weed emergence. *Weed Research*, 45, 2-17.
- Colbach N., DÜRR C., Chauvel B., & Meynard J.M. 2002. Modelling black-grass (*Alopecurus myosuroides* Huds.) germination and emergence, depending on seed characteristics, seed movements and soil climate. Seventh Congress of European Society for Agronomy, Cordoba, Spain, 15-18 Juillet 2002, 621-622.
- Colbach N., DÜRR C., Chauvel B., RICHARD G. 2002. Effect of environmental conditions on blackgrass (*Alopecurus myosuroides* Huds.). II Effect of moisture conditions and storage length. *Weed Research*, 42, 222-230.
- Colbach N., Dürr C., Roger-Estrade J., Chauvel B. (2004) Modelling the effects of farming practices on weed emergence. IWSC Congress 2004, 20-24 June 2004, Durban, South Africa, 13 (oral invité)
- Colbach N., Dürr C., Richard G., Chauvel B., 2000. Modelling black-grass (*Alopecurus myosuroides* Huds.) germination and emergence, in interaction with seed characteristics and movements and soil climate. XI^{ème} colloque International sur la Biologie des mauvaises herbes- Dijon, France. 25-32.
- Colbach N., Chauvel B. 2005. AlomySys: a model of the effect of cropping systems on weed demography. Example of blackgrass (*Alopecurus myosuroides* Huds.). 13th EWRS Symposium, Bari, Italy CD-ROM ISBN 90-809789-1-4.
- Delabays N., Munier-Jolain N.M., 2004. Inhibition de la croissance des mauvaises herbes après incorporation au sol de résidus végétaux : allélopathie ou modification du cycle de l'azote. Proc. XIX^{ème} Conf. COLUMA, Journées Internationales sur la Lutte contre les Mauvaises Herbes, 8-10 Dec. 2004, Dijon, France, 8 pages, AFPP, Paris.
- Délye C., Chauvel B, Matějček A., Chalopin C., Michel S., Gasquez J., Darmency H. 2002. Molecular tools for the diagnosis of resistance to herbicides inhibiting acetyl-Coa

carboxylase in three grass weeds. 13th Australian Weeds Conference. Sept. 2002. Perth Australia. 460-463.

- Munier-Jolain N.M., Chauvel B., Gasquez J. 2002. Long term modelling of weed control strategies : analysis of threshold based options for weed species with contrasted competitive abilities (*Alopecurus myosuroides* Huds.). *Weed Research*, 2, 107-122.
- Munier-Jolain N.M., Savoies V., Kubiak P, Mailliet-Mézeray J., Jouy L., Quéré L. 2004. Decid'Herb : un logiciel d'aide au choix d'une méthode de lutte contre les mauvaises herbes pour une agriculture respectueuse de l'environnement. Proc. XIX^{ème} Conf. COLUMA, Journées Internationales sur la Lutte contre les Mauvaises Herbes, 8-10 Dec. 2004, Dijon, France, 8 pages, AFPP, Paris.
- Munier-Jolain N.M., Chauvel B., Gasquez J 2005. Stratégies de Protection Intégrée contre les adventices des cultures : le retour de l'agronomie. In : Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement du XXI^e siècle. Ed C Regnault-Roger. Lavoisier, Paris (sous presse)
- Munier-Jolain N.M., Savoies V., Kubiak P, Mailliet-Mézeray J., Jouy L., Quéré L. 2005. DECID'Herb, a decision support system on the WEB, designed for sustainable weed management in cultivated fields. Conf. EWRS, Bari, 20-24 juin 2005, 2 pages (+ présentation orale). CD-ROM ISBN 90-809789-1-4.

Autres revues

- Chauvel B., Biju-Duval L., Jouy L., 2001. Gestion des populations de vulpins résistants : quelles possibilités offrent les pratiques culturales ? *Phytoma, La défense des végétaux*, 544, Déc. 2001, 30-34.
- Chauvel B. 2000. Des pratiques culturales qui domptent les vulpins résistants. *La France Agricole*, 2861, 26-27.
- Chauvel B. 2001 Limiter le recours aux herbicides en jouant sur les techniques de culture. *Info Presse*, n° 239, Nov. 2001
- Délye C., Matějček A., Calmes E. Chauvel B. 2002. Des marqueurs moléculaires pour un diagnostic rapide de résistances aux herbicides chez le Vulpin et le Ray-grass. *Phytoma, La Défense des Végétaux*, 548, Avril 2002, 41- 46.
- Munier-Jolain N.M. Chauvel B. 2003. Le pois de printemps, une solution simple et durable. *Perspectives Agricoles*, 228, 22-24
- Munier-Jolain N., P.Morlon P, Macé K., Savoies V., Kubiak P, Quéré L. (2005). Mieux connaître les processus de prises de décision des praticiens pour adapter les préconisations à un environnement multicritère complexe et développer des outils d'aide à la décision efficaces : le cas de la lutte contre les mauvaises herbes. Symp. programmes PSDR, 9-11 mars 2005, Lyon, 16 pages.

Divers

SAVOIS V., MUNIER-JOLAIN N.M. 2003. DECID'HERB : Application WEB d'aide au choix d'un programme de lutte contre les mauvaises herbes des champs cultivés, dans le cadre d'une agriculture respectueuse de l'environnement. Présentation de l'application en vue d'un audit portant sur la " transmissibilité " du développement logiciel. 39 pages

Stages

- 2000. Stage obligatoire étudiant Maîtrise de Biologie Cellulaire et Physiologie de l'Université de Dijon. S. DIAS. La résistance du Vulpin aux herbicides : cas d'une expérimentation visant à réduire les populations par des moyens agronomiques et agrochimiques. 20 p.
- 2001 - Stage obligatoire étudiant Maîtrise de Biologie des Populations et des

Ecosystèmes de l'Université de Dijon (3 mois). S. MATTEOLI. Effet de pratiques culturales naturelles sur la gestion d'une mauvaises herbe résistante : *Alopecurus myosuroides* Huds. 20 p.

- 2001 - Stage obligatoire étudiant Maîtrise de Biologie Cellulaire et Physiologie de l'Université de Dijon (3 mois). A. GERMAIN. Effet de différentes doses d'isoproturon sur la production de semences du vulpin des champs (*Alopecurus myosuroides* Huds.). 20 p.
- 2001 - Stage de DEA de l'ENSAIA-INPL de Nancy (6 mois). G. VINCENT Effet de différentes doses d'herbicides sur la production de semences du vulpin des champs (*Alopecurus myosuroides* Huds.). 30 p.
- 2002. Mémoire BTS, Fiévet A., Allélopathie. 52 p.
- 2003. Mémoire BTS, Cromer M., L'allélopathie. 32 p.
- 2003 Stage obligatoire Maîtrise de Biologie des Populations et des Ecosystèmes de l'Université de Dijon. E. Courbet. Gestion à long terme d'une adventice résistante 15 p.



APR 1999

ÉVALUATION ET GESTION DE RISQUES SPATIO-TEMPORELS DE PULLULATION DU CAMPAGNOL TERRESTRE

COORDINATEUR SCIENTIFIQUE :

Jean-François COSSON

UMR INRA-IRD-CIRAD-
ENSAM, Centre de
Biologie et de Gestion
des Populations
Campus International
de Baillarguet, CS 30016,
34988 Montferrier cedex

Tel : 04 99 62 33 01
Fax : 04 99 62 33 45 ;
cosson@ensam.inra.fr

BUT DU PROJET

La gestion des pullulations de campagnols terrestre dans les zones de moyenne montagne n'est pas satisfaisante du point de vue de son impact environnemental. Elle est accompagnée d'un fort taux d'empoisonnement d'espèces gibiers (sangliers, chevreuils), de prédateurs (renards, buses) et d'espèces protégées (milans royaux). Nous proposons de cibler l'utilisation des pesticides dans l'espace et le temps afin de diminuer les quantités déversées dans l'environnement et ainsi réduire les effets indésirables sur les écosystèmes. La première partie des résultats consiste à déterminer les contextes paysagers qui sont les plus propices aux démarrages des pullulations, zones sur lesquelles doivent être intensifiées la surveillance et le contrôle des campagnols. D'autre part, le contrôle des populations doit aussi tenir compte des possibilités de réinfestation afin de retarder le moment où les milieux vont à nouveau être envahis par les campagnols, et ainsi augmenter la durée d'efficacité des contrôles. La rapidité avec laquelle les milieux sont infestés est étudiée à l'aide de la modélisation de données démographiques et de l'intensité des flux de gènes. Ces nouvelles connaissances sont ensuite mises à profit pour construire des modèles qui permettraient d'estimer les risques et l'évolution des pullulations dans l'espace et le temps. Enfin, nous décrivons comment ces informations ont été diffusées dans la profession agricole et comment elles alimentent actuellement la mise en œuvre de nouvelles stratégies de contrôle.

PRINCIPAUX RÉSULTATS

Caractérisation de foyers de démarrage

Nos études mettent en évidence que les milieux fortement infestés par la taupe sont plus susceptibles que les autres d'être envahis par les campagnols (1). En terme d'application, ces milieux doivent donc être plus intensivement surveillés pour détecter précocement les démarrages des pullulations.

Caractérisation des voies de diffusion

Par la modélisation de séries démographiques collectées en différentes localités de Franche-Comté, nous avons pu montrer que les pullulations diffusaient dans l'espace sous la forme d'une vague avec une vitesse de propagation d'une dizaine de kms par ans (2). Localement cette vitesse de propagation est influencée négativement par la présence d'éléments boisés. Notamment la présence de réseaux de haies ralentit significativement la vitesse de diffusion des pullulations (3). En terme d'application, ces informations devraient être prise en compte lors de la restructuration des milieux agricoles.

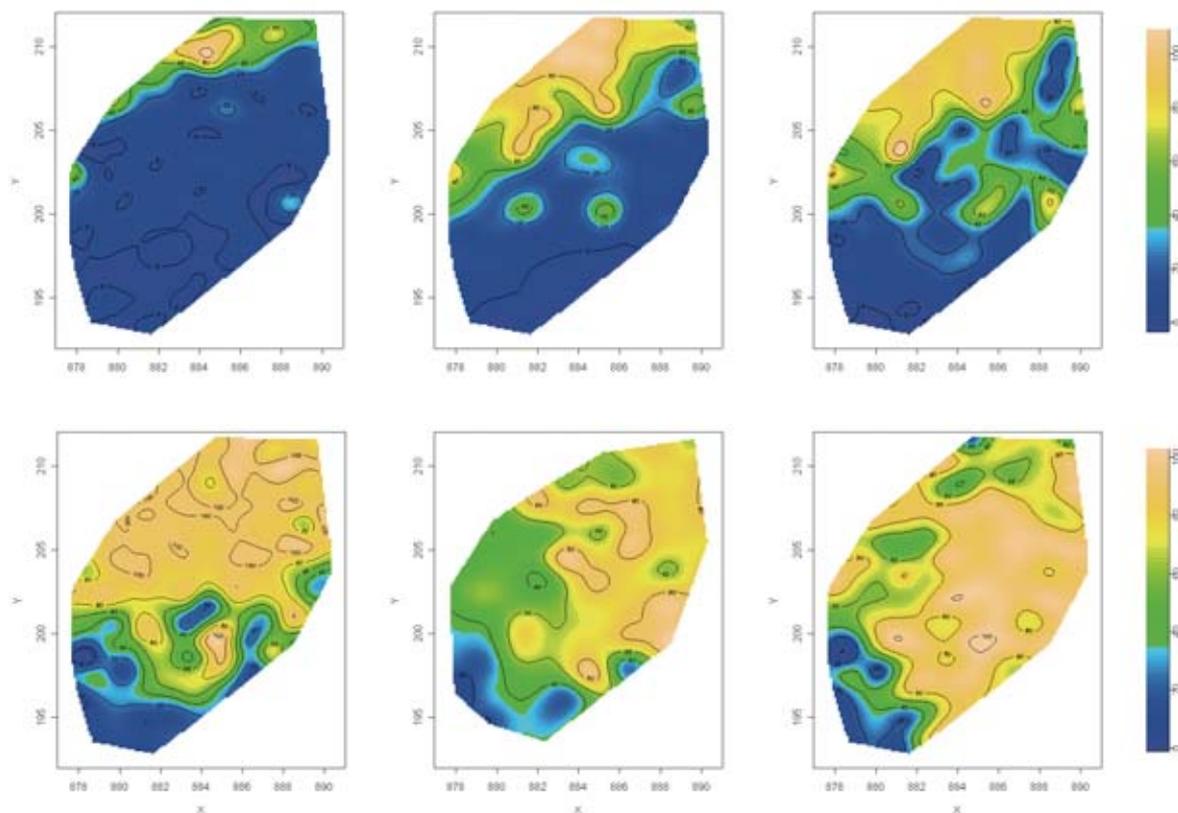


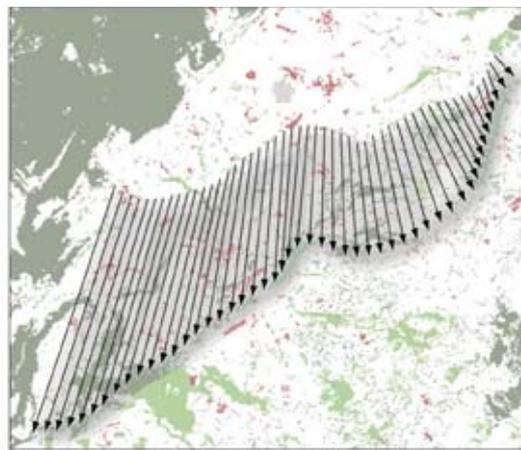
Figure 1 : Dynamique d'invasion du campagnol terrestre entre Avril 2002 et Octobre 2004 (de gauche à droite, puis de haut en bas) sur le canton de Nozeroy (20x15 kms). Les zones en jaunes sont en forte densité, en bleu faible densité

Modalités de dispersion et de recolonisation des milieux

Par l'analyse des flux géniques à deux échelles spatiales emboîtées (région Franche-Comté et canton de Nozeroy), nous avons démontré que la dispersion des campagnols varie au cours du cycle de pullulation (4). En faible densité, la dispersion entre les populations résiduelles est très faible. Cette dispersion reprend fortement dès que les populations entrent en phase de croissance démographique (*ie.* au tout début de la pullulation) (5). En terme d'application, ces informations suggèrent que le contrôle des populations en faible densité peut avoir un effet durable. Alternativement, il semble illusoire de chercher à contrôler les populations en phase de croissance démographique et *a fortiori* au pic de pullulation étant donné la forte dispersion des campagnols à ce moment qui accélère fortement la vitesse de recolonisation des milieux traités.

Vers des modèles prédictifs

Nous avons mis au point un modèle simple qui semble assez robuste pour prédire le risque temporel d'entrée en pullulation dans une commune particulière. Cette approche pourrait à terme simplifier l'avertissement agricole.



Vecteurs de vitesse
(densité 12 % entre avril 2002 et septembre 2002)

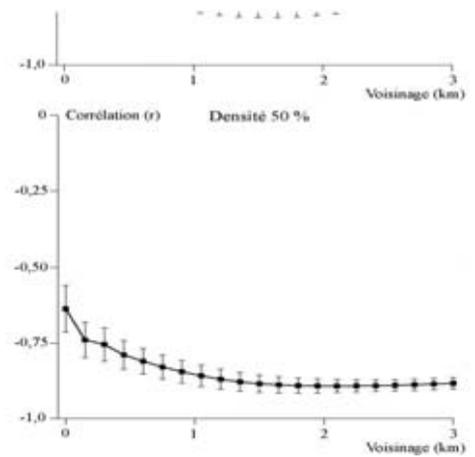


Figure 2 : Dynamique d'invasion en relation avec le paysage dans le canton de Nozeroy. L'image de gauche montre l'avancée des pullulations en 2002. Le graphe de droite montre la corrélation entre la vitesse de diffusion des pullulations et la proximité des haies à différentes tailles de voisinage. On constate que la vitesse de diffusion est fortement ralentie par la présence des haies (coefficient de corrélation très négatif, de -0,60 à -0,90) et que cet effet se fait ressentir à une grande échelle spatiale (jusqu'à 1 km).

BESOINS DE RECHERCHE

Le modèle prédictif doit maintenant être amélioré par la prise en compte des flux de diffusion entre les communes. Les données nécessaires étant maintenant collectées tant à l'échelle régionale qu'à l'échelle cantonale, nous souhaitons poursuivre leur valorisation et leur modélisation au cours des prochaines années. Nous nous orientons actuellement vers deux pistes : mise en œuvre de modèles de diffusion-réaction et d'automates cellulaires. Dans ces deux perspectives, les mises au point méthodologiques pour la modélisation des dynamiques (modèles sinus) et le calcul des distance-coût (6) seront valorisées car intégrables directement dans ces modélisations

TRANSFERTS VERS LA PROFESSION

La lutte contre le campagnol a beaucoup évolué ces dernières années. Un projet de lutte raisonnée, sous la forme d'un contrat passé avec l'exploitant sur une durée de 5 ans, a été élaboré par la FREDON Franche-Comté. Il s'appuie en partie sur les résultats des travaux engagés depuis 1999 dans le cadre de ce projet de recherche, et plus largement dans le cadre du plan d'action régional associant des actions de recherche dirigées par l'Université de Franche-Comté et l'INRA de Montpellier, à des actions de lutte et d'expérimentation menées par la FREDON en partenariat avec la DRAF/SRPV (7).

L'usage de la bromadiolone est limité à une lutte préventive fondée sur des interventions précoces à très basse densité. Cette orientation est confortée par la faible dispersion des campagnols entre les noyaux de populations résiduels pendant la phase de faible densité. En revanche, la lutte chimique curative, à forte densité, est fortement réglementée. Cette disposition est en accord avec nos résultats qui révèlent une dispersion très importante en forte densité, rendant illusoire un effet durable des empoisonnements, les zones traitées étant susceptibles d'être rapidement recolonisées par les individus en dispersion.

D'autre part, la bromadiolone n'est plus le seul moyen de lutte comme l'illustre ce contrat qui associe des méthodes de lutte alternatives, évolution des pratiques agricoles, aménagement du territoire, relevant de la gestion écologique (*ecological-based management*). Parmi ces mesures incitatives, le travail du sol pour limiter les réseaux de galeries de taupes qui favorisent l'installation et accélèrent l'accroissement démographique du campagnol, devraient être ciblées sur les parcelles où les réseaux de taupes couvrent plus de 10 % de la surface ; la prise en compte de l'environnement des parcelles (degré d'ouverture des milieux notamment) et la mise en place, ou le maintien

des structures boisées (bosquets, haies et groupes d'arbres) qui limitent la diffusion spatiale des pullulations.

Enfin, la valeur prédictive du modèle doit être validée ces prochaines années en comparant les valeurs prédites aux valeurs observées. La prise en compte des flux grâce aux approches de «diffusion-réaction» ou aux «automates cellulaires» permettra probablement d'améliorer significativement la valeur prédictive de ce modèle. Ce modèle pourrait à terme simplifier l'avertissement agricole.

PARTENAIRES

- Laboratoire de Biologie et d'Ecophysiologie, Université de Besançon
Patrick GIRAUDOUX (Professeur) et Eric LOCOT (MCF, UFC)
- Laboratoire THEMA, CNRS, UPRESA 6049, Besançon
Didier JOSSELINE (CR, CNRS), Thierry BROSSARD (DR, CNRS), Jean Christophe FOLTETE (MCF, UFC), François TOURNEUX (Bureau d'étude F. Tourneux)
- Centre de Biologie et Gestion des Populations (CBGP), UMR 1062, Montferrier/Lez
Pierre DELATTRE (DR, INRA), Jean-Pierre QUÉRÉ (IE, INRA), Maxime GALAN (TR, INRA), Yannick CHAVAL (TR, INRA), Karine BERTHIER (Thèse INRA-Région Franche-Comté)
- Service Régional de Protection des Végétaux (SRPV) et Régionale de Défense contre les Organismes Nuisibles (FREDON), Besançon
Michel HABERT (Directeur, SRPV), Denis TRUCHETET (IE, SRPV), Didier PÉREAL (FREDON)

PUBLICATIONS ET VALORISATIONS

Les numéros entre () indiquent les publications référencées dans le texte ci-dessus.

Publications et communications scientifiques

- (2) Berthier K., Foltete J.C., Giraudoux P., Cosson J.F. (soumis) Complex spatio-temporal patterns in abundance in the cyclic fossorial water vole (*Arvicola terrestris*) in Franche-Comté (France). *Oikos*.
- (4) Berthier K., Galan M., Foltete J.C., Charbonnel N., Cosson J.F., 2005 Genetic structure of the cyclic fossorial water vole (*Arvicola terrestris*): Landscape and demographic influences. *Molecular Ecology*, 14, 2861–2871.
- Berthier K., Galan M., Weber A., Loiseau A., Cosson J.F., 2004 A multiplex panel of microsatellite markers for water vole, *Arvicola terrestris*. *Molecular Ecology Notes*, 4, 620–622
- Berthier K., Foltête J.C., Prieur B., Cosson J.F., 2004. Utilisation des analyses radiales pour la caractérisation d'un paysage. Application pour l'étude de la dynamique spatio-temporelle du campagnol terrestre. Sixièmes Rencontres de Théo Quant. Publication en ligne <http://thema.univ-fcomte.fr/theoq>.
- (5) Berthier K., Charbonnel N., Galan M., Chaval Y., Cosson J.F., (soumis) Migration and maintenance of genetic variability in cyclic vole populations : a spatio-temporal study. *Journal of Evolutionary Biology*.
- Bryja J., Galan M., Charbonnel N., Cosson J.F., 2005. Analysis of MHC class II gene in water voles using CE-SSCP. *Molecular Ecology Notes*. 5, 173–176
- Bryja J., Galan M., Charbonnel N., Cosson J.F., (in press) Duplication, balancing selection and trans-species evolution explain the high levels of polymorphism of the DQA MHC class II gene in voles (*Arvicolinae*). *Immunogenetics*.
- (1) Delattre P, R Clarac, JP Melis and P Giraudoux (soumis) Colonisation of grassland by the Water Vole (*Arvicola terrestris*) and its interaction with the Mole (*Talpa europaea*). *Journal of Applied Ecology*
- Deter J Berthier K, Chaval Y, Cosson JF, Morand S., Charbonnel (in press) Influence of the geographic scale on the detection of density-dependence in a host-parasite system. The case of *Arvicola terrestris* and *Taenia taeniaeformis*. *Parasitology*.

Foltête J.C., 2003, Reconstitution d'une diffusion spatiale à partir d'une succession d'états, *L'Espace Géographique*, 3, 171-183.

Foltête J.C., 2004, Cartographie des éléments de paysage par télédétection : la forme comme révélateur de la fonction, *Actes de Géopoint 2004*, Avignon, 06/2004. .

Foltête J.C., 2004, Mesure de la connectivité du paysage à travers un maillage spatial, *Revue Internationale de Géomatique*, 14, 59-82.

- (3) Foltête J.C., Berthier K., Cosson J.F., 2005, Distance-coût définie par une fonction topologique du paysage, in: Josselin D., Libourel T. (eds.), *Actes de SAGEO' 2005*, Avignon 21-23 juin 2005, ISBN: 2-910545-06-7.
- (6) Foltête J.C, Berthier K., Cosson J.F., 2005. Paysage et pullulation animale : les facteurs paysagers de la vitesse de propagation des vagues de pullulations du campagnol terrestre. *Cybergéo*, 306, <http://193.55.107.45/articles/306res.htm>

Communications orales

Berthier K., Foltête J.C., Prieur B., Cosson J.F., (2003) Utilisation des analyses radiales pour la caractérisation d'un paysage. Application pour l'étude de la dynamique spatio-temporelle du campagnol terrestre. Oral communication Théoquant, Besançon. Février.

Berthier K., Galan M., Cosson J.F., (2003) Population genetic structure of the cyclic water vole (*Arvicola terrestris*) in the Jura mountains, France. Oral communication. 4th European Congress of Mammalogy, Brno. July.

Foltête J.C., Josselin D., 2001, Using spatio-temporal co-occurrence matrices to delineate spatial patterns about vole swarming, *US-IALE Pattern, Process, Scale and Hierarchy*, Arizona State University, Tempe, Arizona, April 25-29. <http://www.west.asu.edu/LEML/iale2001/>

Publications et communications à vocation de transfert

Cosson J.F., Giraudoux P., 2000-2005. Nombreuses réunions d'informations (>3 réunions par an) vers la profession (agriculteurs et techniciens Fredon) à la demande de la FREDON, de la SRPV et de la chambre d'Agriculture. Locaux de la FREDON/SRPV à Besançon, Comice agricole de Nozeroy, Salles municipales de la Chapelle d'Huin, de Haute-Pierre, de Nozeroy.

Cosson J.F. Dispersion chez le campagnol terrestre (2002) Colloque Prairie d'Altitude et pullulations de campagnols. Besançon.

Delattre P., 2002. Synthèse des connaissances sur les pullulations du campagnol terrestre. Colloque Prairie d'Altitude et pullulations de campagnols. Besançon.

Giraudoux P., 2002. Prédateurs et pullulations du campagnol terrestre. Colloque Prairie d'Altitude et pullulations de campagnols. Besançon.

- (7) Truchetet D., Ruant J., Bedekovic P., Perreal D., Defaut R., Delattre P., 2005. Lutte contre le campagnol terrestre, bilan et perspectives. *Phytoma, La Défense des Végétaux*, 580, 24-28.

Formations universitaires

Vaniscotte A., 2005. Stage de Master SST spécialité ESS. Université UFC

Hennion A.S., 2001. *Structure génétique des populations fluctuantes du Campagnol terrestre, Arvicola terrestris, dans le Doubs*. DEA Biologie de l'Evolution et Ecologie, Montpellier.. (rapport écrit de 25 pages + annexes).

Vanpe C., 2003. Stage de Maîtrise de Géographie. Université UFC.

Pécho D., 2003. Stage de Maîtrise de Géographie. Université UFC.

Berthier K., 2002-2004. *Flux génique et dispersion du campagnol terrestre*. Thèse d'Université UFC.



APR 1999

UTILISATION ET TRANSFERT DES PHYTOSANITAIRES DANS UN BASSIN VERSANT URBANISÉ

COORDINATEUR
SCIENTIFIQUE :

Jean-Marie MOUCHEL

ENPC - CEREVE

77455 Marne-la-Vallée
Cedex

Tel. 01 64 15 36 45
mouchel@cereve.enpc.fr

ÉTAT DU PROBLÈME

Bien que la plupart des produits phytosanitaires soit vendus en France pour un usage agricole, les usages non-agricoles le milieu urbain en utilisent des quantités non négligeables de ces produits. En 2000 par exemple, les usages non agricoles comptaient pour 10 % des ventes de produits phytosanitaires en France¹. Les principaux utilisateurs urbains sont les services municipaux, les particuliers pour l'entretien de leurs jardins et divers autres utilisateurs (entretien des routes, voies ferrées), ou encore les sociétés prestataires mandatées par chacun de ces groupes d'utilisateurs. Beaucoup des applications de produits phytosanitaires en milieu urbain se font sur des surfaces imperméables à fort coefficient de ruissellement. Enfin, beaucoup d'utilisateurs urbains, les jardiniers amateurs en particulier, connaissent mal les produits qu'ils épandent. Le risque de pollution des eaux est donc important et un meilleur raisonnement des usages de produits phytosanitaires en milieu urbain est donc indispensable.

Les niveaux de contamination dans les eaux de ruissellement urbaines sont encore peu connus. Ce sont des concentrations très élevées à l'aval de l'agglomération de Rennes qui ont déclenché la mise en œuvre d'un vaste plan d'action en faveur d'une très forte limitation des usages dans cette ville. A plus grande échelle, en Marne, en Seine et dans l'Oise, Fauchon *et al.* (2004) nous indiquent une pollution majoritaire par des pesticides dont on peut envisager une origine urbaine (AMPA, glyphosate et aminotriazole), ce qui confirme les hypothèses de Guivarc'h (2000) pour le bassin de la Marne.

Quelques éléments sont également disponibles à plus petite échelle. Sur des plots de 0,25m² composés de différents matériaux utilisés sur les voiries, Blanchoud *et al.* (2001) ont mesuré des coefficients de transfert très élevés (20 à 100 %) pour le glyphosate, le diuron et l'aminotriazole. A l'échelle de la dizaine de mètres, à Pacé, sur un site expérimental unique en France (SRPV-Bretagne, 2000, Bretagne et Angoujard, 2001) des transferts de près de 40 % du diuron et 10 % du glyphosate ont été obtenus, avec des concentrations très élevées pour les toutes premières pluies (de l'ordre de 1000 µg.L⁻¹). D'autres essais en Europe, sur des voiries par exemple, confirment ces ordres de grandeur (Ramwell *et al.*, 2002, Sheperd et Heather, 1999, Revitt *et al.* 2002).

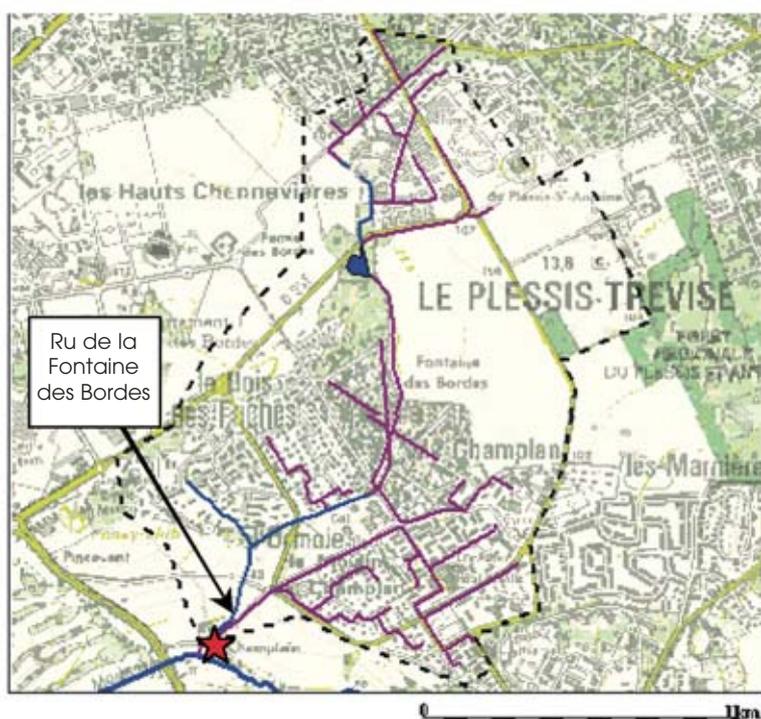
A plus grande échelle, sur deux bassins versants fortement urbanisés de 50 et 100 km² environ, en banlieue parisienne, Blanchoud *et al.* (2004) ont pu évaluer des coefficients de transfert annuels, pour quelques matières actives. En particulier des taux annuels d'exportation de 4 à 7 % pour le diuron dans chacun des deux bassins versant étudiés. Ces travaux ont récemment été complétés par ceux de Laigre (2004) qui confirment pour l'essentiel les coefficients d'exportation obtenus. Les concentrations mesurées dans ces cours d'eau dépassent largement le µg/L pour chaque produit.

Ce projet avait donc pour objectif de travailler à une échelle intermédiaire, et de cerner usages et exportations sur un bassin versant de l'ordre du km².

LE SITE D'ESSAI

Situé dans le département du Val-de-Marne, le Ru de la Fontaine des Bordes prend sa source au Plessis Trévisé, puis il est recouvert sous les habitations de La Queue-en-Brie où il se confond avec le réseau d'eau pluviale, avant de réapparaître au niveau des terres agricoles au sud du bassin et de se jeter dans le Morbras à La Queue-en-Brie. La surface totale de son bassin versant est de 210 hectares, L'urbanisation est essentiellement pavillonnaire, on compte quelques immeubles autour de la mairie de La Queue-en-Brie au centre du bassin versant, et une zone industrielle sur la plateau dans la commune du Plessis-Trévisé (Zone d'activité Ponroy).

36 % de la surface totale du bassin versant est constituée de terrains agricoles. Une analyse très détaillée du parcellaire urbain (Barroca, 2002 ; Bourny, 2001) montre que le bâti compte pour 15.9 % de la surface totale du bassin versant. Les autres surfaces imperméables comptent 16.3 % et parmi elles les voiries 10.9 % de la superficie totale. L'imperméabilisation totale telle qu'elle apparaît par analyse de vues aériennes (déjà intégrées dans la BD TOPO de l'IGN ou réalisée par nos soins) est de 32,2 %.



- Réseau d'eau pluviale
- Rivières
- - - Limite du bassin versant
- ★ Point de prélèvement

PRODUITS ET PRATIQUES

Les enquêtes réalisées permettent d'évaluer les quantités utilisées et les pratiques. En 2000 par exemple, les quantités de matières actives appliquées étaient en moyenne environ 1 g/ha sur tout le bassin versant, dont 41 % en secteur agricole, et en ce qui concerne le secteur urbain, 31 % par les jardiniers amateurs, 21 % par les sociétés prestataires chargées de l'entretien des espaces collectifs (de nombreux lotissements privés existent sur le bassin versant), et 8 % par les services techniques municipaux.

La distinction entre les molécules "agricoles" et les produits "urbains" est nette sur ce bassin versant avec une série de produits typiquement urbains : glyphosate, diuron, aminotriazole, mecoprop, dichlorophene, dichlorprop ou encore bromacil (tous des herbicides). Le fosetyl aluminium est le principal produit non herbicide utilisé en milieu urbain, il s'agit d'un fongicide utilisé par les particuliers.

Les estimations des quantités appliquées par les sociétés prestataires ont été très difficiles et incertaines. Il serait souhaitable que le mode d'usage des produits phytosanitaires (quels

critères d'application, quelles quantités...) soit systématiquement un des éléments du contrat.

Les éléments les plus déterminants des pratiques des particuliers sont les suivants : ils ne se protègent pas assez lors des applications ou des préparations des dilutions, ils traitent de manière curative, et ont tendance à sur-doser, alors qu'ils affirment respecter plus ou moins les doses (certains sur-dosages à l'échelle annuelle sont dus à des applications multiples au cours de l'année). Un tiers des herbicides utilisés sont épandus sur des surfaces imperméables et donc susceptibles de ruisseler vers le réseau pluvial.

Le succès de la campagne de sensibilisation menée reste très mitigé. Elle est jugée utile (mais pour les autres) mais trop simpliste, alors même qu'une large partie des jardiniers amateurs ne respectent pas les consignes de protection pourtant bien mentionnées dans la plaquette. Cependant, une majorité des utilisateurs de pesticides «particulier» déclarent avoir besoin de conseils, mais de conseils plus savants et non pas un rappel de règles d'usages qui semblent relever d'abord du bon sens. Tous ces éléments constituent une piste pour optimiser une éventuelle prochaine campagne de sensibilisation.

Les recommandations ont été bien appliquées par la commune (modalités de stockage et d'application des produits, respect de secteurs à risque de ruissellement fort...), qui note cependant que les résultats sont de moins bonne qualité, pour un effort plus important (binette débroussailleuse...). On notera qu'elle fait maintenant appel à une société prestataire.

EXPORTATION DES PRODUITS

Les concentrations à l'exutoire du ru de la Fontaine des Bordes peuvent être très élevées avec des valeurs de quelques dizaines de $\mu\text{g.L}^{-1}$ rencontrées pour une molécule donnée (diuron, glyphosate) de manière exceptionnelle. Ces concentrations sont beaucoup moins élevées que ce qu'on peut observer à l'exutoire de parcelles imperméables bien identifiées. Elles restent cependant fortes (les pesticides sont très fréquemment détectés au delà de $0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$).

Les coefficients de transfert (rapport export/apport), évalués globalement à l'échelle de l'année sont apparus faibles comparés à d'autres données obtenues à d'autres échelles (bassin plus grand ou parcelles imperméables). Les valeurs obtenues sont de 1 à 2 % pour le diuron et l'aminotriazole et inférieures à 1 % pour le glyphosate avec son métabolite AMPA. Nous n'avons pas pu déterminer avec précision ce qui explique ce comportement à la fois spécifique et intéressant de ce bassin versant (du point de vue de la limitation des exportations en milieu urbain). Il est très probable que le faible transfert des pesticides soit lié à la faible intensité du ruissellement à partir des surfaces imperméables dans ce bassin. En effet, le ruissellement mesuré à partir des mesures de débit réalisées en continu à l'aval du bassin apparaît nettement en retrait par rapport à ce que la modélisation hydraulique du réseau, fondée sur les mesures d'imperméabilisation donnerait. Ainsi, alors que les surfaces imperméables dépassent 30 % sur le bassin versant, alors que la mesure des écoulements et leur modélisation nous permettent d'estimer un coefficient de ruissellement (fraction de la pluie qui ruisselle immédiatement) de 5 % seulement. Il existe donc un mode de fonctionnement hydrologique spécifique sur ce bassin versant, probablement avec des ré-infiltrations il pourrait considérablement influencer le devenir des pesticides en favorisant la fixation des produits sur les sols. Notre hypothèse est que le ruissellement est principalement retenu en zone riparienne du petit ruisseau qui sert d'exutoire au bassin versant, ce secteur étant le seul propice à une rétention d'eau. Cependant, ce mécanisme dont l'ampleur avait été mesurée au départ de l'étude, n'a pas pu être validé par des observations directes.

ACTIONS

La question des pratiques des utilisateurs, et des politiques qu'on peut mener pour les améliorer, a été au centre de beaucoup des travaux que nous avons menés, à la fois en direction d'acteurs individuels (les particuliers) et de structures organisées (les communes et leur environnement).

Les particuliers ne sont pas insensibles à la problématique au problème des pesticides, leur discours témoigne d'un certain niveau de prise de conscience (respect des doses par exemple ou modalités de stockage ou gestion des déchets). Cependant, cette prise de conscience reste limitée et s'estompe dès lors que les contraintes deviennent trop importantes (porter des gants par exemple). Par ailleurs, ils demandent une information de haut niveau qui aille au delà des recommandations usuelles qu'on peut résumer à "respectez les instructions figurant sur les boîtes de produits". C'est donc un effort de communication considérable qui est nécessaire puisqu'il faut pouvoir apporter des réponses circonstanciées sur les meilleures pratiques d'entretiens du jardin, au delà des pratiques d'usage des produits phytosanitaires, mais y coupler l'information nécessaire sur les risques liés aux phytosanitaires.

En face d'une demande qui apparaît plus complexe, et à laquelle la campagne d'information mise en place n'a que très imparfaitement répondu, se pose le problème de l'acteur porteur du projet. Les particuliers se tournent vers les distributeurs professionnels². Ces derniers sont bien entendu capables de fournir des informations techniques de premier plan sur l'entretien des jardins, mais en ce qui concerne l'usage ou le non-usage de produits phytosanitaires, il existe un conflit d'intérêt latent qui risque d'apparaître dans la pratique. Les communes sont citées comme le deuxième type d'acteur auprès desquels les habitants aimeraient chercher de l'information. La piste mériterait d'être expérimentée.

Les communes sont aussi des utilisateurs très significatifs de produits phytosanitaires. Au delà des relations privilégiées que nous avons eu au cours de ces travaux avec la commune de La-Queue-en-Brie, un travail d'analyse a été mené auprès de toutes les communes du Morbras. Il a montré un faible niveau d'émergence de la problématique phytosanitaires urbains, malgré les efforts entrepris par les services de l'état. Il était donc important de compléter cette analyse par un travail sur un autre terrain, réputé "à succès", et nous avons donc été amenés à travailler sur un autre terrain auprès de communes Bretonnes.

Dans la perspective d'une transformation volontariste des pratiques, il apparaît que différents éléments socio-politiques doivent être pris en compte.

Le problème lié à l'utilisation des produits phytosanitaires doit être construit d'une manière moins «techniciste». Cette préconisation conduit d'une part, à *encourager les collectivités locales à échanger* et d'autre part à *inciter la population à prendre conscience du problème*.

La constitution d'un réseau entre différentes collectivités semble primordiale pour débattre du problème lié à l'usage urbain des pesticides et aussi pour communiquer autour des actions qui ont bien fonctionné. En créant un lieu d'échanges, les communes peuvent connaître les démarches qui ont été (ou sont) mises en œuvre dans d'autres communes et appréhender la manière dont elles peuvent transposer et s'approprier ces mêmes démarches. Or, *le bassin versant apparaît être un territoire d'action pertinent* pour la coordination et le suivi des actions de réduction et/ou de maîtrise des pesticides initiées par les collectivités locales. En effet, l'existence d'une «structure de bassin» (syndicat des eaux ou structure intercommunale) permet de fédérer ces actions, d'accompagner les initiatives locales. De plus, la constitution d'un tel réseau permet de collectiviser l'information et donc de diminuer son coût.

Toutefois, pour que ce réseau, ce «lieu d'expériences» fonctionne, il nécessite d'être coordonné par une structure facilement identifiable. A titre d'exemple, nous pouvons citer pour le cas francilien, le rôle du Syndicat Marne Vive. Créé en 1993, son objectif principal est de restaurer, à terme, une qualité de l'eau de la Marne compatible avec la baignade. Ses agents conseillent les communes sur les bonnes pratiques à adopter en matière d'utilisation des produits phytosanitaires. La volonté du syndicat est bien d'être le moteur et le catalyseur de bonnes démarches. En Bretagne, le porteur du contrat de bassin (généralement un syndicat des eaux ou un groupement de communes) conseille et sensibilise les acteurs, qu'ils soient agriculteurs, particuliers ou collectivités, notamment en ce qui concerne la pollution par les pesticides. Un animateur Bretagne Eau Pure chargé de suivre les actions de réduction des phytosanitaires menées au niveau local est également présent. Dès lors, pour les communes appartenant au bassin versant du Morbras, la solution

ne serait-elle pas dans la constitution d'une structure d'échanges à l'échelle du bassin versant ? Ainsi, l'intérêt des communes du Morbras de communiquer autour de la problématique phytosanitaire serait, semble-t-il, la construction d'une identité territoriale « orbras ». La construction de ce territoire politique et d'une institution correspondante serait le moyen de mettre en évidence les bénéfices que les décideurs politiques locaux peuvent retirer d'une publicisation du risque.

Si la création d'un lieu d'expériences est profitable dans une telle démarche, la construction du problème en objet politique passe également par une action de sensibilisation auprès de la population. Les associations ont, semble-t-il, un rôle non négligeable à jouer auprès de la population. En Bretagne, des associations telles que la Maison de la Consommation et de l'Environnement ou encore Eaux et Rivières de Bretagne font partie intégrante du dispositif d'information et de sensibilisation du programme régional Bretagne Eau Pure. De la même manière, la plupart des élus bretons rencontrés s'appuient sur des « Croisés » de la lutte anti-phytosanitaire, c'est à dire sur des gens qui ont fait du problème lié à l'utilisation des pesticides leur « cheval de bataille ».

L'inscription de la problématique phytosanitaire sur l'agenda politique local nécessite un portage politique local. En effet, une fois que le problème phytosanitaire est considéré comme « techniquement » résolu, tout un travail politique s'impose alors à nouveau. Il y a donc une alternance des interventions politiques et techniques dans la problématisation des risques phytosanitaires. La solution technique pouvant apparaître comme inacceptable aux yeux de certains groupes sociaux, notamment les riverains, le politique « reprend la main » et définit un nouvel espace de discussion où sont explicités les choix techniques. De cette manière, le politique permet une pérennisation des changements de pratiques.

Les études menées ont mis en évidence l'importance du portage politique dans la pérennisation du programme d'actions concret mené sur le terrain. Pour le dire autrement, sans définition d'un nouvel espace de discussion par les politiques, les programmes d'actions de réduction des phytosanitaires mis en place sur le territoire communal restent éphémères. La plupart des responsables espaces verts nous ont expliqué qu'ils ne se sentent pas autorisés à endosser la responsabilité d'une telle politique.

Si le technicien ne trouve pas d'écho à son programme d'actions dans le discours politique local, alors il peut se tourner, dans un premier temps, vers la structure supra-communale (une « structure de bassin » par exemple). Il s'agit, pour l'acteur supra-communal, de mettre l'accent sur les avantages possibles qu'une commune peut retirer de la prise en considération de la pollution par les pesticides comme objet de politique publique. Les moyens de transformer le risque phytosanitaire en argument politique sont nombreux. Cette valorisation peut passer par la création d'un label qui récompenserait les communes les plus motivées dans la lutte contre les pollutions phytosanitaires. Il peut également s'agir d'un article de presse, relatant les bonnes pratiques (« écologiques ») de la commune, publié dans le magazine du bassin versant concerné. L'incitation se traduit essentiellement par la possibilité de profiter des connaissances du réseau d'acteurs présent et d'obtenir des aides financières pour une commune désireuse de s'inscrire dans une telle démarche. A titre d'exemple, nous pouvons citer les aides qu'apportent certaines structures de bassin en Bretagne dans la mise en place d'un Plan de Désherbage des Espaces Communaux.

Les recommandations finales que nous sommes amenés à faire en ce qui concerne l'action au niveau des communes sont au nombre de deux. D'une part, le problème ne doit pas être construit de manière trop « techniciste » (une norme, de conseils, des méthodes à appliquer). Il est important de construire un réseau de collectivités, qui peut avantageusement l'être à l'échelle du bassin en s'appuyant sur des structures existantes de type syndicat de eaux. Ce réseau pourra s'appuyer sur des initiatives associatives qui seront des relais auprès de la population, ce qui permet à la fois d'expliquer l'action publique et de solliciter des actions personnelles (cf. problème de diffusion de conseils préalablement cité). Le deuxième élément important est celui du portage politique pour éviter les blocages par certains groupes sociaux et assurer la pérennité de la mise en œuvre des solutions techniques identifiées. L'expérience mériterait d'être poursuivie sur ce point en Île-de-France.



APR 1999

LES ASSOCIATIONS DE VARIÉTÉS DE BLÉ POUR LIMITER LES ÉPIDÉMIES ET RÉDUIRE L'UTILISATION DE FONGICIDES :

CRITÈRES DE SÉLECTION, MODALITÉS D'APPLICATION PRATIQUES, DURABILITÉ

COORDINATEUR SCIENTIFIQUE :

Claude POPE

UMR INRA INA-PG
d'Epidémiologie
végétale et écologie
des populations, BP01
78850 Thiverval-Grignon

Tél. 01 30 81 52 27
Fax. 01 30 81 53 06
pope@grignon.inra.fr

BUT DU PROJET

La gestion des variétés résistantes n'est pas organisée en France. L'association au sein d'une parcelle de plusieurs variétés différant par leurs gènes de résistance permet d'accroître la biodiversité et de mieux maîtriser les maladies. Cette pratique culturale est ancienne et efficace, mais l'application dans l'agriculture industrialisée est encore restreinte. Trois exemples d'application à grande échelle de cultures en association ont permis la suppression de tout traitement fongicide en cours de végétation : la culture d'orge de printemps dans l'ex-RDA, du riz en Chine et des caféiers en Colombie, tout en conservant la productivité et la qualité de la récolte. Cette pratique est également employée au Danemark (9 à 12 % de l'orge de printemps sont cultivés en association variétale depuis 25 ans), aux Etats-Unis (des associations de variétés de blé sont cultivées dans l'Oregon, l'état de Washington, le Kansas), en Pologne (22 % des céréales sont des associations variétales).

Nous proposons de diversifier les variétés résistantes pour répondre à des objectifs correspondant à deux échelles de temps. D'une part la diversification au cours de la saison culturale pour freiner les épidémies et ainsi réduire les coûts imputables aux fongicides, c'est l'objet de la première partie des résultats, avec la sélection de variétés de blé panifiable supérieur pour la culture en association et l'application des associations de variétés de blé dans des parcelles agricoles en adaptant un système de culture. D'autre part, le but sur le plus long terme, est de retarder le contournement des résistances par la population parasite et ainsi augmenter la durée d'efficacité des résistances et mieux gérer les ressources génétiques. La durabilité des résistances est étudiée avec une étude théorique par simulation et une étude expérimentale.

PRINCIPAUX RÉSULTATS

Expérimentations d'associations variétales de blé en France

La vulgarisation de cette pratique culturale en France a nécessité de choisir des variétés déjà inscrites au catalogue des espèces et variétés, de tester leur aptitude à l'association et de mettre au point un système de culture adapté. Deux expérimentations sur des associations variétales ont été conduites : la première a permis de choisir des variétés pour leur compatibilité pour la culture en association, la seconde de tester sur de grandes superficies, en conditions de culture de protection intégrée, l'intérêt d'associations variétales de blé panifiable supérieur et la possibilité de vérifier la composition des lots récoltés.

De façon à limiter le nombre de tests pour choisir les variétés à associer, l'idée est de tester la valeur prédictive du comportement d'associations variétales binaires pour composer des associations plus complexes. L'effet associatif

quaternaire moyen est supérieur mais proche de l'estimation réalisée à partir de l'observation des associations binaires, et l'estimation fondée sur l'expérimentation d'associations binaires est donc meilleure que celle obtenue à partir des cultures monovariétales.

Nous avons étudié le comportement d'associations variétales quaternaires par rapport aux cultures monovariétales pour la réduction des épidémies, la stabilité de la production et la qualité de la récolte dans la pratique. De plus, nous avons répondu aux impératifs de traçabilité en mettant au point une technique par marquage moléculaire (microsatellites) qui permet de déterminer les proportions relatives des grains produits par les variétés dans une culture en association.

Nous avons mis en place un réseau de parcelles agricoles de blé panifiable supérieur et proposé un système de culture de protection intégrée visant à réduire les intrants de 30 % par rapport aux pratiques intensives. Grâce à une filière composée d'une meunerie, de chambres d'agriculture et une dizaine d'agriculteurs, nous avons suivi au cours de 3 années au total 28 essais d'association variétale et de culture pure, représentant 250 ha.

Une association variétale de blé a été testée durant 2 ans dans 19 environnements, un seul traitement fongicide a été appliqué dans la majorité des parcelles. L'association variétale est plus efficace que la moyenne de ses quatre cultures monovariétales : la sévérité de la maladie, prédominante, la septoriose, est réduite de 6 %, le rendement a augmenté de 0,32 t ha, la teneur en protéines est supérieure de 0,54 %, et la note de panification de l'association variétale est équivalente de celle des cultures monovariétales. Les performances de l'association variétale sont équivalentes à celles de la meilleure variété en culture monovariétale. L'augmentation de rendement correspond au gain acceptable pour une innovation variétale sans qu'une sélection variétale soit nécessaire. L'augmentation simultanée du rendement en grains et de la teneur en protéines est particulièrement intéressante pour une culture de blé, sachant qu'il existe souvent une relation inverse entre ces deux critères dans les cultures monovariétales.

L'un des principaux intérêts visés par les associations variétales est la stabilité du rendement. Nous avons caractérisé les environnements par les facteurs limitant les composantes du rendement d'une variété de référence. L'interaction génotype x environnement montre que quel que soit le potentiel du lieu, au cours de 2 années dans 15 environnements, les associations variétale étaient parmi les plus stables et les plus productives, par comparaison aux 4 cultures monovariétales.

Durabilité de la résistance d'une association variétale

Le risque majeur de cette pratique culturale est la sélection de pathotypes des parasites capables de surmonter la résistance de plusieurs variétés d'une association. Il peut être réduit en modifiant la composition des associations au cours des années en fonction de l'évolution des populations parasites. Nous avons développé un modèle de simulation décrivant la structure génétique d'une population parasite sur une association variétale en termes de pathotypes et de valeurs d'agressivité. Les isolats disposant d'un niveau d'agressivité plus fort par rapport à un génotype hôte donné ont été sélectionnés et ont augmenté en fréquence. Cependant, comme les pathotypes simples se multiplient toujours sur le même génotype hôte tandis que les pathotypes complexes sont capables de se reproduire sur différents génotypes hôtes, la sélection fut plus rapide pour les pathotypes simples. D'une manière générale, une plus forte diversité à l'intérieur d'un pathotype a réduit la vitesse de sélection des pathotypes complexes dans l'association variétale. Ces conclusions ont été vérifiées expérimentalement pour l'oïdium vis-à-vis de deux variétés de blé en culture monovariétale et en association.

En conclusion, nous avons montré que les associations variétales constituent un élément d'un système de culture de protection intégrée chez le blé. Il y a une demande pour l'agriculture durable. Une façon de stabiliser le rendement dans des systèmes à faibles niveaux d'intrants, est la diversité génétique, qui pourra être réalisée dans un système de protection intégrée, par exemple.

TRANSFERT AUX UTILISATEURS

La constitution d'une base des efficacités associatives binaires correspond à une méthodologie rationnelle pour constituer des associations plus complexes, lesquelles peuvent masquer l'inutilité ou même l'incompatibilité de certains de leurs composants. La première étape consiste à expérimenter des couples formés à partir des variétés adaptées à leurs conditions (de milieu, de type de production, de contraintes ...) et présentant de bons niveaux de résistance aux maladies habituellement préoccupantes. Dans un deuxième temps, l'assemblage d'associations quaternaires peut être réalisé en toute connaissance de l'intérêt de chacun des composants. Ce travail a été initié par des chambres d'agriculture partenaires du projet.

Les meuneries engagées dans ce projet ont continué à travailler en partenariat avec des agriculteurs pour la culture d'associations de blé. Suite à plusieurs articles dans la presse agricole (La France Agricole, Cultivar), nous avons été sollicité par différents groupements de producteurs, qui devraient permettre de confirmer l'intérêt des associations variétales, notamment dans les itinéraires techniques à bas niveau d'intrants.

BESOINS DE RECHERCHE

L'association de variétés est une pratique culturale actuellement possible pour l'autoconsommation et pour les productions contractualisées. Elle intéresse également l'agriculture biologique. Les recherches devront s'orienter vers une meilleure compréhension des compétitions entre variétés. Les valeurs associatives des variétés devraient être étudiées non seulement pour les résistances aux maladies mais également pour une complémentarité pour l'assimilation de l'azote, comme le montrent nos résultats sur la meilleure qualité des récoltes des associations variétales. Une approche théorique est nécessaire pour concevoir des types variétaux propres à la sélection en association.

Les associations variétales ont été étudiées surtout pour les céréales. D'autres espèces sont actuellement travaillées par l'INRA : le pommier, la pomme de terre et la laitue. L'efficacité des associations variétales n'est pas équivalente avec tous les pathosystèmes, mais nous observons, dans la majorité des cas, un effet partiel et significatif qui contribue avec d'autres moyens de lutte à réduire les épidémies de façon acceptable pour l'environnement et la productivité. Ces résultats devraient encourager le développement de cette pratique culturale dans un contexte respectueux de l'environnement.

PARTENAIRES

- De Vallavieille-Pope C., Lannou C., Belhaj Fraj M., Mille B., UMR d'Epidémiologie Végétale et Ecologie des Populations, INRA, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon
- Meynard J.M., Saulas P., UMR d'Agronomie, INRA, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon
- Monod H., Biométrie, INRA, Domaine de Vilvert, 78352 Jouy en Josas
- Lallemand J., Le Guillomarc'h H., Laboratoire BioGEVES, Domaine Le Magneraud, BP 52, 17700 Surgères
- Dumoulin F., Chambre d'Agriculture de l'Oise, Odase 37 route de Senlis 60800 Duvy.
- Guichaoua J.C., Chambre d'Agriculture de l'Aube, 2 bis rue Jeanne d'Arc BP 4080, 10014 Troyes.
- Omon B., Chambre d'Agriculture de l'Eure, 5 rue de la petite Cité, BP 882, 27008 Evreux cedex
- Petit D., Mesnil Girauld, 91150 Etampes

Reuves avec comité de lecture international

- Finckh M.R., Gacek E.S., Goyeau H., Lannou C., Merz U., Mundt C. C., Munk L., Nadziak J., Newton A. C., de Vallavieille-Pope C., Wolfe M. S., 2000. Cereal variety and species mixtures in practice. *Agronomie*, 20, 813-837.
- Villaréal L.M.M.A., Lannou C. 2000. Selection for increased spore efficacy by host genetic background in a wheat powdery mildew population. *Phytopathology*, 90, 1300-1306.
- Lannou C. 2001. Intrapathotype Diversity for aggressiveness and pathogen evolution in cultivar mixtures. *Phytopathology*, 91, 500-510.
- Belhaj Fraj M., Falentin-Guyomarc'h H., Monod H., de Vallavieille-Pope, C. 2003. The use of microsatellite markers to determine the relative proportions of grain produced by cultivars and the frequency of hybridisation in bread wheat mixtures. *Plant Breeding*, 122, 385-391.
- de Vallavieille-Pope C. 2004. Management of disease resistance diversity of cultivars of a species in single fields: controlling epidemics. *Comptes Rendus Académie des Sciences, Biologies*, 327, 611-620.
- Mille B., Belhaj Fraj M., Monod H., de Vallavieille-Pope, C. Assessing four-way mixtures of winter wheat cultivars from the performances of their two-way and individual components. *European Journal of Plant Pathology*, accepté.

Reuves sans comité de lecture

- Mille B., de Vallavieille-Pope C., 2001. Associations variétales et interventions fongicides contre les septorioses et la rouille brune du blé d'hiver. *Cahiers Agricultures*, 10 : 125-129.
- de Vallavieille-Pope C., Mille B., Belhaj Fraj M., Meynard J.M., 2004. Intérêt des associations de variétés de blé pour diminuer les fongicides ; conséquence sur la filière. *Sélectionneur Français*, 54, 45-56.
- de Vallavieille-Pope C., Belhaj Fraj M., Mille B., Meynard J.M., 2005. Les associations de variétés : accroître la biodiversité pour mieux maîtriser les maladies. *Courrier de l'Environnement INRA*, sous presse.

Congrès

- Belhaj Fraj M., Mille B., Monod H., Meynard J. M., de Vallavieille-Pope C., 2001. Evaluation des performances phytosanitaires, agronomiques et industrielles d'associations variétales de blé tendre d'hiver à destination meunière dans un réseau de parcelles agricoles. Poster 5e Congrès de la Société Française de Phytopathologie, Angers, 26-29 mars 2001, p. 158.
- de Vallavieille-Pope C., 2003. Gestion de la diversité des résistances variétales au sein d'une espèce et d'une parcelle : contrôle d'épidémies. Scéance de l'Académie des Sciences commune avec l'Académie d'Agriculture : Biodiversité dans les agroécosystèmes et protection des plantes, Paris, 6 Mai 2003.
- de Vallavieille-Pope C., 2003. Intérêt des associations de variétés de blé pour diminuer les fongicides ; conséquence sur la filière. Assemblée générale de l'ASF 'l'amélioration des plantes pour l'agriculture de demain', Paris, 6 février 2003.
- Belhaj Fraj M., Meynard J. M., Monod H., Mille B., de Vallavieille-Pope C., 2003. Stabilité du rendement et de la qualité d'une association de variétés de blé dans des parcelles agricoles conduites selon un système de protection intégrée. AFPP – Septième conférence internationale sur les maladies des plantes, Tours, 3-5 décembre 2003 (Poster, texte intégral).
- Belhaj Fraj M., Meynard J. M., Monod H., Mille B., de Vallavieille-Pope C., 2003. Reduction of septoria leaf blotch severity and stability of grain yield and quality of wheat cultivar mixtures in on-farm trials. CIMMYT- 6th International Symposium on Septoria/Stagonospora

Diseases of Cereals, Tunis Tunisia, 8-12 décembre 2003 (Poster, texte intégral).

- de Vallavieille-Pope C., Mille B., Belhaj Fraj M., Meynard J. M., Monod H., 2004. Efficacité et stabilité du rendement et de la qualité d'associations de variétés de blé. Journées Jean Chevaugéon - Rencontres de Mycologie - Phytopathologie, Aussois, 13-17 janvier 2004.
- de Vallavieille-Pope C., Mille B., Belhaj Fraj M., Meynard J. M., L. Parisi 2005. Les associations de variétés : accroître la biodiversité pour mieux maîtriser les maladies (céréales, arbres fruitiers, etc.). Quelles variétés et semences pour des agricultures paysannes durables ? Séminaire INRA et Confédération Paysanne, Angers 11-13.5.05.
- Østergård H., Hoad S., Vogt-Kaute W., de Vallavieille-Pope C., Bertholdsson N.O., Wolfe M., 2005. Composition of variety mixtures in barley and wheat for low-input systems. Workshop of Cost Action 860, Assesemnt of varietal characteristics in diverse crop and diverse low-input especially organic growing systems, 3-6 July 2005, Edinburgh, Scotland. (Présentation orale)
- de Vallavieille-Pope C., Belhaj Fraj M., Mille B., Monod H., Meynard J. M., 2005. Stability of grain yield and quality of bread wheat cultivar mixtures in on-farm trials. Workshop of Cost Action 860, Assesemnt of varietal characteristics in diverse crop and diverse low-input especially organic growing systems, Poster, 3-6 July 2005, Edinburgh, Scotland.

Documents à vocation de transfert

- de Vallavieille-Pope, C. 2002. Fiche : Cultiver plusieurs variétés de blé sur une même parcelle pour freiner les épidémies.
- Tiers N., 2001. Les associations variétales font leur preuve, Cultivar, 7.
- Omnès G., 2003. Economiser les intrants avec les mélanges variétaux. La France Agricole, 46-47.
- Waligora C., 2003. Réintroduire la diversité au sein de la parcelle. Cultivar, 559, 7.
- Gloria C., 2005. Depuis dix ans nous pratiquons les mélanges. Les associations variétales sont à la hauteur. Réussir céréales grandes cultures 183 : 22-23.

DEA et Thèses

- Bergaoui S., 2002. Evaluation des performances phytosanitaires, agronomiques et industrielles d'une association variétale de blé tendre d'hiver. *Mémoire de DAA Ingénierie de la Production Végétale, INA-PG, INH et ENSA de Montpellier*, 32 p.
- Belhaj Fraj M., 2003. Evaluation de la stabilité et de la faisabilité des associations variétales de blé tendre d'hiver à destination meunière en conditions agricoles. *Thèse de doctorat, ENSAR, Rennes* 120 pp.

Rapports de stagiaires

- Bernard B., 2000. Evaluation des performances des mélanges variétaux de blé tendre d'hiver. *Mémoire de fin d'études IUT Génie Biologique, Université d'Auvergne Clermont 1*. 23 p. + annexes.
- Sellos S., 2000. Evaluation des performances des mélanges variétaux de blé tendre d'hiver en conditions agricoles. *Mémoire de fin d'études IUT Génie Biologique, Laval*. 37 p. + annexes.
- Leamlin F., 2000. L'association variétale une solution de lutte ? *Mémoire de fin d'études BTSA Technologie Végétale, Dijon*. 36 p. + annexes.
- Belhaj Fraj M., Marais E. et Viard N., 2001. Quels débouchés pour les blés associés ? *Projet Ingénieur DAA AGER Agronomie et Environnement Option Filière et Qualité INA PG*. 37 p. + annexes.
- Lombard A., 2001. Evaluation des performances phytosanitaires des mélanges variétaux

de blé tendre d'hiver en condition agricoles. Mémoire de fin d'études de BTSA Technologie Végétale, Magnanville. 37 p.

- Zihouf Y., 2001. L'association variétale : un nouvel élan pour l'agriculture intégrée. Mémoire de fin d'études de BTSA Technologie Végétale, Magnanville. 36 p.
- Paridiot M., 2002. Etude du comportement de variétés de blé tendre en associations. *Mémoire de stage de d'IUT, IUT d'Auvergne - Clermont I*, 20p.
- Clément S., 2002. *Mémoire de fin d'études d'ingénieur des techniques agricoles. ISAB Beauvais.*

Communications à des groupes de travail

- de Vallavieille-Pope C., 1999. Intérêts des associations de variétales de blé, CEREAF, association de meuniers, agriculteurs, chaîne de distribution, Blois, 28.1.99
- de Vallavieille-Pope C., Mille B., 2001. Les associations variétales de blé tendre. Filière du pain normand, les défis ruraux, Lycée agricole et alimentaire d'Yvetot (76190), 7.06.01
- de Vallavieille-Pope C., Goyeau H., Lannou C., Mille B., Belhaj Fraj M., 2001. Intérêts épidémiologiques des associations de variétales de blé tendre : combinaisons des résistances, Rencontres INRA-Agriculture biologique, séminaire de travail entre chercheurs et praticiens, Rennes, 19.6.01 (Résumé)
- de Vallavieille-Pope C., 2003. Partnership with end-users and breeders, INRA departments SPE, EA and GAP: cultivar mixtures and wheat for low input crops. Présentation lors de l'évaluation du département SPE, Sophia-Antipolis, 16-19.9.03.
- Belhaj Fraj M., Meynard J. M., Monod H., Mille B., de Vallavieille-Pope C., 2003. Stabilité du rendement et de la qualité d'une association de variétés de blé dans des parcelles agricoles conduites selon un système de protection intégrée. AFPP - Septième conférence internationale sur les maladies des plantes, Tours, 3-5 décembre 2003 (Poster, texte intégral).
- de Vallavieille-Pope, C. 2002. Fiche : Cultiver plusieurs variétés de blé sur une même parcelle pour freiner les épidémies.
- de Vallavieille-Pope C., Mille B., Belhaj Fraj M., Meynard J. M., L. Parisi 2005. Les associations de variétés : accroître la biodiversité pour mieux maîtriser les maladies (céréales, arbres fruitiers, etc.). Quelles variétés et semences pour des agricultures paysannes durables ? Séminaire INRA et Confédération Paysanne, Angers 11-13.5.05.
- de Vallavieille-Pope C., Les associations variétales pour une gestion avec de faibles niveaux d'intrants. Réunion prévue avec un groupement d'agriculteurs, à Versailles le 7.1.06.



APR 1999

IMPACT BIOCÉNOTIQUE DES MODES DE PROTECTION CONTRE LE CARPOCAPSE DES POMMES

COORDINATEUR SCIENTIFIQUE :

Benoît SAUPHANOR

INRA
Ecologie des Invertébrés,
Site Agroparc
84914 AVIGNON

Tél. 04 32 72 26 07
sauphano@avignon.inra.fr

OBJET

La parcelle cultivée est par essence un milieu naturel perturbé, qui force la présence d'une seule espèce (voire variété) végétale en s'opposant à la présence d'espèces végétales concurrentes et à celle des consommateurs primaires que sont les ravageurs des cultures.

À cette élimination partielle d'un échelon de la chaîne alimentaire s'ajoute l'altération directe des auxiliaires lorsque la protection recourt à des pesticides peu spécifiques.

Une revue scientifique récente fait état de 76 études comparant la biodiversité de systèmes de culture conventionnels et biologiques ou intégrés, se différenciant par l'intensité du recours aux pesticides et la nature des produits utilisés (Hole *et al.* 2005, *Biological Conservation* 122 : 113-130). Selon les communautés étudiées, les résultats peuvent être contradictoires, mais la majorité des études conclut à une minimisation des impacts sur les communautés par l'agriculture biologique (AB). Les études biologiques sur l'arboriculture fruitière sont peu nombreuses et fragmentaires.

Notre étude présente des investigations sur l'impact biologique de systèmes de protection à la fois sur le site d'application des pesticides, à savoir le verger, et sur son environnement immédiat à savoir la strate herbacée. L'étude porte sur des communautés représentatives du compartiment aérien, à savoir les arthropodes phytophages et auxiliaires et les oiseaux.

CONTEXTE PHYTOSANITAIRE

Le cadre de l'étude est constitué de vergers commerciaux de pommiers situés dans un rayon de 20 km autour d'Avignon, et servant de parcelles de référence à un réseau d'observation phytosanitaire (réseau «PFI-PACA»). Les observations sont conduites sur 5 vergers en agriculture biologique (modalité AB) et 10 vergers sous cahiers des charges Production Fruitière Intégrée (PFI) conformes à la Charte nationale pommes. Cinq des parcelles en PFI sont protégées contre le carpopapse uniquement au moyen d'insecticides chimiques (modalité *Conventionnelle*), les cinq autres intégrant une méthode alternative de protection contre le carpopapse, la confusion sexuelle (modalité *Confusion*). Une étude similaire est conduite en parallèle sur 3 vergers de pommiers du domaine expérimental de l'INRA de Gotheron (26), protégés selon les 3 mêmes modalités. Des observations sont conduites également sur un verger de pommiers familial proche de Cavaillon, entretenu mais non traité depuis plus de 20 ans.

Le système de culture que constituent les vergers de pommiers est caractérisé par le très faible recours aux herbicides. Ils sont exclus en AB, et limités dans les deux autres modalités à quelques applications en localisé sur le rang (qui est

surtout entretenu mécaniquement), l'inter-rang étant maintenu enherbé. Les parcelles en AB reçoivent en moyenne chaque année 14 traitements fongicides minéraux (2 au cuivre et 12 à base soufre) contre la tavelure et l'oïdium et 12 applications de virus de la granulose contre le carpocapse, parfois complétées par la confusion sexuelle. Les autres insectes et les acariens ne font l'objet d'aucun traitement. Dans les deux autres modalités, le nombre moyen de fongicides organiques est de 13, auxquels s'ajoutent 5 fongicides minéraux en *conventionnel* et 3 en *confusion*. En *conventionnel*, 17 traitements insecticides sont appliqués en moyenne chaque année. Il s'agit exclusivement de neurotoxiques, dont 9 à 12 organophosphorés du groupe I (parathion-méthyl, azinphos-méthyl, chlorpyrifos-ethyl seul ou associé au diméthoate) contre le carpocapse, 2 à 3 pyréthrinoides contre la zeuzère et un nombre équivalent d'applications contre les pucerons (incluant les familles précitées et les chloronicotiniles). L'utilisation de la confusion sexuelle permet de réduire de 17 à 9 traitements annuels la protection insecticide, sans changement dans le choix des matières actives.

IMPACT SUR LES ARTHROPODES PHYTOPHAGES.

La protection phytosanitaire affecte la diversité intraspécifique des espèces cibles et non cibles notamment par sélection de populations résistantes. Cette évolution est bien connue chez le carpocapse des pommes qui dans la quasi-totalité des vergers du sud-est de la France présente une résistance à plusieurs familles d'insecticides chimiques. Parmi les populations échantillonnées, seule la population du verger familial, non traité et isolé d'exploitations traitées chimiquement, conserve une phénologie « sensible ». Des taux élevés de phénotypes résistants sont observés dans les parcelles en *confusion* et en AB.

La capacité du carpocapse de se déplacer de plusieurs km en cours de saison, la nature croisée des résistances (les traitements appliqués contre d'autres cibles sélectionnent la résistance chez le carpocapse) et la faible contre-sélection liée au coût biologique des gènes de résistance chez cette espèce excluent pour l'instant de statuer sur l'intérêt de zones refuges non traitées chimiquement, tels les vergers en agriculture biologique, pour la restauration de la sensibilité aux insecticides des populations du bioagresseur.

Par ailleurs, dans les vergers en confusion sexuelle abritant une forte population initiale, les traitements chimiques appliqués en appui perdent de leur efficacité et voient leur nombre s'accroître (il est passé progressivement de 1,3 à 5,2 entre 2001 et 2004 sur les parcelles en confusion du réseau PFI-PACA), limitant par là même l'intérêt de cette méthode.

De même que dans les pays ayant adopté la confusion sexuelle contre le carpocapse depuis plusieurs années, la réduction des traitements insecticides non spécifiques s'accompagne localement de l'émergence de nouveaux ravageurs, dont l'importance reste minime.

Dans ce bassin de production, l'acarien rouge *Panonychus ulmi* reste en pratique le seul ravageur du pommier pour lequel la protection est raisonnée sur la base de seuils, en raison notamment du coût élevé des acaricides. Le seuil d'intervention n'est atteint qu'une année sur 4 sur les parcelles en *confusion* contre 3 années sur 4 dans les parcelles *Conventionnel*.

En AB des conditions climatiques favorables à la tavelure entraînent certaines années de nombreuses applications de soufre avec un effet favorisant sur *P. ulmi*, attribuable à la toxicité du soufre sur les ennemis naturels des acariens.

IMPACTS SUR LES ARTHROPODES AUXILIAIRES

Au cours de 4 années de suivi en vergers expérimentaux, les échantillonnages d'arthropodes sur pommier et dans le couvert herbacé de l'inter-rang du verger pour les 3 systèmes de protection indiquent :

- des effectifs totaux élevés dans le verger AB, alors que des fluctuations importantes sont notées pour le verger conventionnel, notamment dans le couvert herbacé ;
- une hétérogénéité de réponse aux traitements des groupes fonctionnels d'auxiliaires, avec en AB une prépondérance de prédateurs généralistes (punaises prédatrices

d'acariens, coccinelles, syrphes, forficules) et une prépondérance en verger *conventionnel* (et secondairement *confusion*) des Hyménoptères parasitoïdes et des Névroptères.

En observant plus précisément la communauté des mineuses de feuilles, on décèle une richesse spécifique maximale (4 espèces), une structuration du réseau de parasitoïdes et les densités les plus élevées (30 ind./100 feuilles) dans le verger témoin. En *conventionnel*, une seule espèce de mineuse est présente, les densités sont peu élevées (10 ind./100 feuilles) et les réseaux de parasitoïdes ne sont constitués que de parasitoïdes primaires. La richesse spécifique des mineuses est identique pour les modalités *AB* et *confusion*, mais les réseaux de parasitoïdes sont les plus affectés en *AB*. Les composés soufrés comme les pesticides chimiques agissent ici en perturbateurs.

IMPACT SUR LES COMMUNAUTÉS AVIAIRES

Le mode de protection des vergers influe sur l'installation et la reproduction des oiseaux insectivores, suivies pendant 3 ans au moyen de nichoirs installés à raison de 5 par verger d'étude. La mésange bleue et le moineau friquet ne s'installent que dans les vergers en *AB*. Et si la mésange charbonnière colonise l'ensemble des vergers des 3 modalités, le nombre de jeunes produit qui s'établit à 17ha dans les vergers en *AB* décroît significativement à 11 en *confusion* et à 9 en *conventionnel*.

Le suivi des paramètres de reproduction permet d'attribuer ces différences en premier lieu à une moindre installation puis à un plus fort taux d'abandon des nids par les adultes en parcelles traitées chimiquement. Ces deux paramètres sont conditionnés par la disponibilité en nourriture. L'abandon des nids est également induit par l'action neurotoxique des traitements altérant la capacité de nourrissage des adultes. De rares cas de mortalité directe dans les nids à l'occasion de traitements insecticides avant fleur sont enfin observés. De même la communauté aviaire dans son ensemble diffère significativement entre les trois modalités *AB* - *confusion* - *conventionnel* avec respectivement des abondances de 46,3 - 32,7 - 15,1 individus/ha, des richesses spécifiques de 18,5 - 14,5 - 7,2 espèces nicheuses/ha et des indices de diversité (Shannon) de 3,9 - 3,6 - 2,5. La structure fonctionnelle de ces communautés est elle même altérée puisque les vergers de la modalité conventionnelle connaissent un fort déclin des taux relatifs d'insectivores et de rapaces, affectés à la fois par l'impact direct des traitements et par la raréfaction de leurs proies. Bien qu'également affectés (richesse spécifique réduite de 20 % en *conventionnel* comparée aux vergers *AB*), les oiseaux granivores voient donc leur taux relatif s'accroître dans les vergers en *conventionnel*.

TRANSFERT AUX UTILISATEURS

- Nos travaux confirment dans le contexte des vergers du sud-est les résultats d'études conduites sur d'autres systèmes selon lesquels l'occurrence de ravageurs mineurs accompagnant les réductions d'utilisation des pesticides chimiques est compensée par une meilleure régulation naturelle des ravageurs principaux. En particulier le bilan économique dressé sur la base des pertes et des traitements est en faveur de la confusion sexuelle dès lors que les populations de carpocapse sont suffisamment faibles pour être maîtrisées par cette méthode de lutte. Ces résultats et nos travaux sur la dispersion des résistances aux insecticides ont servi de base à la définition de stratégies de gestion du carpocapse, en s'efforçant de concilier l'aspect environnemental, la durabilité du système et satisfaction économique des exploitants (cf note nationale SPV-INRA Carpopapse, http://www.avignon.inra.fr/internet/unites/ecologie_des_invertebres/bloc_protection_integree)

- Des précisions sont apportées sur l'impact des différentes familles de pesticides sur les principaux groupes fonctionnels et systématiques d'auxiliaires présents en vergers de pommiers, expliquant en particulier la composition faunistique des communautés d'arthropodes des vergers en *AB* et dans leur environnement végétal proche (absence d'insecticide neurotoxique après floraison, utilisation importante de soufre en protection

contre la tavelure). Cette expertise a contribué à l'élaboration de l'indicateur agri-environnemental lphy-arbo (étude pilotée par P. Girardin, INRA Colmar).

- La pose de nichoirs en vergers permet d'apprécier l'impact du système de production sur une communauté biologique située en bout de chaîne alimentaire. Elle sensibilise également les exploitants sur le rôle des auxiliaires, et sur l'intérêt potentiel de leurs parcelles agricoles comme source de biodiversité. Une fiche détaillant la pose et le suivi des nichoirs, l'identification des espèces et la production des nichées a été éditée, et expérimentée par un réseau d'arboriculteurs auxquels les nichoirs étaient fournis. Il en ressort un fort intérêt pour cet aménagement et une possibilité de valorisation dans certains cahiers des charges au titre de l'éco-conditionnalité.

BESOINS DE RECHERCHE

- L'impact des pratiques phytosanitaires sur l'environnement proche de parcelles indique la nécessaire prise en compte des pratiques à une échelle plus large que la parcelle. Ces pratiques sont toutefois hétérogènes, même au sein d'une même exploitation. L'utilisation de méthodes alternatives aux insecticides chimiques, telles que la confusion sexuelle dont on a vu ici l'intérêt, nécessite un regroupement de parcelles voire d'exploitants pour éviter les introductions de femelles fécondées. Tant en termes d'efficacité des protections alternatives que de bénéfices environnementaux, une action et une analyse à différentes échelles s'imposent. Elles impliquent un dialogue entre sciences sociales et biologiques (analyse et déterminants des pratiques, dynamique spatiale des ravageurs et des communautés d'auxiliaires au sein de la mosaïque paysagère) et un partenariat étroit avec les agriculteurs et les structures d'encadrement agricole (lutte collective, contiguïté des surfaces en protection alternative).

- Une évaluation biologique des indicateurs agri-environnementaux est un préalable à leur utilisation. Leurs sorties s'avèrent parfois contradictoires avec les observations directes sur les communautés biologiques, et certains indicateurs prédisent un impact maximum de la protection AB sur les communautés d'arthropodes et d'oiseaux. Un critère essentiel d'impact d'un pesticide est sa persistance. Celle du soufre explique l'impact attendu de systèmes en AB sur certaines communautés biologiques des vergers. Mais des produits non persistants dans le milieu peuvent avoir une persistance d'effet sur les organismes. C'est le cas pour l'altération de l'acétylcholinestérase par les OPs et les carbamates, comme l'indiquent des études initiées en parallèle sur vers de terre (travaux de Y. Capowiez, INRA Avignon). La fréquence élevée de renouvellement des traitements en vergers peut donc interdire la restauration des communautés, même dans le cas de spécialités à faible persistance. Ces suivis biologiques ne sont cependant accessibles qu'à des spécialistes de chaque communauté, et donc inenvisageables dans la pratique - à l'exception notable de certaines observations sur les oiseaux, permises par la pose de nichoirs selon des modalités bien définies -

Il est donc nécessaire de mettre en œuvre simultanément sur mêmes espaces agricoles des observations biologiques et les indicateurs agri-environnementaux dont on envisage l'utilisation, à fin de validation.

PARTENAIRES

- Catherine Boisneau et Jérôme Casas : IRBI UMR CNRS 6035 UNIVERSITE DE TOURS Parc de Grandmont - 37200 TOURS.
- Sylvaine Simon et Hubert Defrance : INRA Domaine de Gotheron - 26320 St MARCEL lès VALENCE.
- Jean-Charles Bouvier et Thomas Boivin : INRA - Ecologie des Invertébrés, Site Agroparc - 84914 AVIGNON.

- Boivin T., Bouvier J.C., Chadœuf J., Beslay D., Sauphanor B., 2003. Constraints on adaptive mutations in the codling moth : measuring fitness trade-offs and natural selection. *Heredity*, 90, 107-113.
- Boivin T., Bouvier J.C., Beslay D., Sauphanor B., 2004. Variability in diapause propensity within populations of a temperate insect species: interactions between insecticide resistance genes and photoperiodism. *Biological Journal of the Linnean Society*, 83, 341-352
- Bouvier J.C., sauphanor B., Toubon J.F., 2002. La reproduction des oiseaux insectivores : un marqueur de l'impact environnemental des stratégies phytosanitaires en vergers de pommiers. *L'arboriculture fruitière*, 560, 51-56
- Bouvier J.C., Sauphanor B., Toubon J.F., 2002. Impact de la protection du verger de pommiers sur la reproduction des oiseaux insectivores. ANPP, Conférence Internationale sur les Ravageurs en Agriculture, Montpellier 4-6 décembre 2002. Vol 1 : 201-209
- Bouvier J.C., Toubon J.F., Boivin T., Sauphanor B. 2005. Effects of apple orchard management strategies on the great tit (*Parus major*) in southeastern France. *Environmental Toxicology and Chemistry*, sous presse.
- Sauphanor B., 2002 Impact écologique de la protection des vergers de pommiers: comparaison de méthodes chimique et biologique. *Presse info INRA*, <http://www.inra.fr/presse/mai02/nb1.html>
- Sauphanor B., Bouvier J.C., Brun L., Capowiez Y., Girardin P., Rieux R., Simon S., Boisneau C. 2003. Impact environnemental des modes de protection en vergers de pommiers. Communication affichée, *SIMA Paris*.
- Sauphanor B., Bouvier J.C., Boisneau C., Rieux R., Simon S., Toubon J.F., Capowiez Y., 2005. Impacts biologiques des systèmes de protection en vergers de pommiers. *Phytoma*, 581,42-46
- Simon S., Defrance H., Rieux R., Sauphanor B., 2002. Hedgerows and beneficial phytophagous arthropods. Proceedings 14th IFOAM Organic World Congress : 145.

MÉMOIRES

- Bernard-Bruneau C., 2002. Impacts biocénétiques des différentes méthodes de protection contre le carpocapse des pommes. Rapport de BTS protection des cultures Aix Valabre, 44p.
- Boivin T., 2003. Pléiotropie de la résistance aux insecticides : estimation, manifestations écologiques et modélisation chez le carpocapse des pommes. Thèse de doctorat, spécialité Sciences de la Vie, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, 81 pp et 5 publications scientifiques annexées
- Boutin S. 2001. Analyse de la gestion des interventions phytosanitaires et de leurs effets non intentionnels en verger de pommiers. Mémoire de DAA Protection des plantes et Environnement, INA PG, ENSAM, ENSAR, 47pp + annexes
- Bouvier J.C. 2004. Exposition et réponse de l'avifaune aux pratiques phytosanitaires en vergers : Possibilités de traduction en termes de bioindication et de transfert vers la profession agricole. Mémoire d'Ingénieur Diplômé par l'Etat, spécialité Agriculture, ENSAM, 62pp + annexes.



APR 2002

ETUDE ET MODÉLISATION DES LIENS ENTRE OPÉRATIONS CULTURALES, CARACTÈRES DES FRUITS OU DE LA PLANTE ET CONTAMINATION PAR LES MONILIOSES EN VERGER DE PÊCHERS EN VUE D'UNE PROTECTION DURABLE

COORDINATEUR SCIENTIFIQUE :

Françoise LESCOURRET

INRA
Unité Plantes et Systèmes
de culture Horticoles,

Domaine Saint-Paul,
site Agroparc,
84914 Avignon cedex 9

Tél. 04 32 72 24 53
lescou@avignon.inra.fr

RAPPEL DES OBJECTIFS ET DU DÉCOUPAGE EN TÂCHES

Dans ce programme, pour lequel nous avons retenu le cas de l'arboriculture fruitière, exemplaire pour l'intensité de la protection phytosanitaire chimique et les problèmes qu'elle engendre, nous sommes partis de l'idée qu'une des manières les plus directes de réduire les risques liés à l'utilisation des pesticides consistait à réduire cet usage. Cela suppose de réfléchir à une association judicieuse entre techniques de lutte chimique et non chimique. Nous avons proposé d'étudier, dans une perspective de protection durable, comment des opérations culturales sont susceptibles de modifier l'incidence d'agents pathogènes par l'intermédiaire de caractères de la plante ou d'organes cibles de l'attaque, en choisissant le cas des pêchers et des monilioses. Le pêcher est la deuxième espèce fruitière d'intérêt économique en France, et les monilioses sont responsables de la maladie fongique la plus dommageable sur arbres fruitiers : la perte de récolte peut aller jusqu'à 30 à 40 % lors des années favorables.

Dans notre proposition, les caractères considérés sont la densité de craquelures de l'épiderme pour les fruits et la structure de la couronne pour la plante. Les craquelures sont des voies d'entrée des conidies, donc des portes pour la contamination (Arnoux, 1979), et notre hypothèse est que leur apparition peut être contrôlée par les techniques culturales (irrigation, taille, éclaircissage) qui agissent sur la croissance du fruit. Les opérations de conduite peuvent agir sur le développement des monilioses en modifiant le microclimat au sein de la couronne.

Pour l'ensemble du programme, l'idée est de mettre en regard les opérations culturales étudiées et les performances sanitaires (au sens « santé des plantes ») et agronomiques.

Pour une partie du programme, un objectif important est de modéliser l'évolution de la densité de craquelures de l'épiderme des fruits, et, au-delà, l'évolution de la conductance cuticulaire des fruits (conductance de l'épiderme à la vapeur d'eau), dont les craquelures sont une composante : la conductance est impliquée dans l'élaboration de la qualité *via* les pertes en eau qu'elle détermine (concentration des sucres dans la pulpe). Elle est ainsi une variable pivot pour le couplage d'un modèle agronomique d'élaboration de la qualité organoleptique des pêches et d'un modèle épidémiologique du développement des monilioses, développés par ailleurs. A l'aide des modèles couplés, il sera possible de tester, en simulation dans le cadre de ce programme, l'effet de scénarios techniques différents sur un profil de performances dans lequel on pourra associer des indicateurs du niveau d'intrants phytosanitaires chimiques, du potentiel de conservation des fruits, et de leur qualité organoleptique.

Pour une autre partie du programme, il a été prévu d'étudier l'effet de modes de conduite innovants, en interaction avec l'irrigation, sur le développement de la maladie tout en contrôlant les résultats agronomiques. Cette partie ne donnera pas lieu à modélisation, mais elle peut déboucher sur des résultats pragmatiques, et sur des possibilités d'application.

Notre projet se situe donc dans une phase de construction de connaissances pragmatiques d'une part, et d'outils de simulation d'autre part, capables d'intéresser les partenaires de terrain.

Nous avons découpé notre projet en 2 tâches. La tâche 1 étudie les interactions entre plantes/fruits et maladies sous l'influence des opérations culturales. Elle est elle-même découpée en deux sous-tâches. La tâche 1.1 étudie et modélise les liens entre la croissance des fruits modulée par les opérations culturales et l'évolution de la conductance cuticulaire et de la densité de craquelures sur l'épiderme des fruits. La tâche 1.2. étudie l'effet du mode de conduite de l'arbre, en interaction avec l'irrigation, sur le développement des monilioses et les performances agronomiques. Dans la fiche ci-après, nous rendons compte de l'état d'avancement des tâches 1.1. et 1.2. La tâche 2 doit utiliser un simulateur couplant des points de vue agronomiques et épidémiologiques (cf. supra) pour tester des scénarios techniques différents. Le couplage étant conditionné à l'achèvement de la tâche 1.1, cette tâche 2 ne prendra effet que lors des dernières phases du programme.

Etude et modélisation des liens entre croissance des fruits et variables du fruit impliquées dans la contamination par les monilioses et la qualité organoleptique, sous l'influence des opérations culturales

Modélisation de l'évolution de la conductance cuticulaire des fruits

Les évolutions de la masse fraîche et de la surface du fruit constituent les entrées du modèle, dont on trouvera une présentation détaillée dans Gibert *et al.* (2005). Le lien entre les opérations culturales et ces entrées a été étudié expérimentalement, et modélisé *via* le modèle agronomique précédemment évoqué.

La conductance totale de la surface du fruit à la vapeur d'eau est égale à la somme de la conductance stomatique, de la conductance cuticulaire et de celle des éventuelles craquelures.

La conductance stomatique est le produit de la densité de stomates par la conductance spécifique d'un stomate. Nous avons fait l'hypothèse que le nombre de stomates était déterminé très tôt et restait constant avec le développement du fruit.

Les craquelures sont supposées apparaître lorsque la vitesse d'expansion de la pulpe (considérée comme égale à la vitesse d'expansion du fruit entier) est supérieure à celle de l'épiderme. Cette dernière est égale à la surface de la cuticule (surface totale diminuée des craquelures) multipliée par le taux d'expansion relatif de la cuticule, supposé varier, à partir d'informations bibliographiques, de façon inversement proportionnelle à la masse fraîche du fruit, choisie comme indicateur de développement du fruit. Chaque jour, une proportion constante de la surface de craquelures formées, indépendante de l'âge du fruit et du nombre de craquelures, est supposée se cicatriser. La conductance des craquelures est égale à la proportion de craquelures à la surface du fruit multipliée par la conductance spécifique des craquelures. De façon similaire, la conductance cuticulaire est calculée en multipliant la conductance spécifique cuticulaire par la surface de cuticule du fruit.

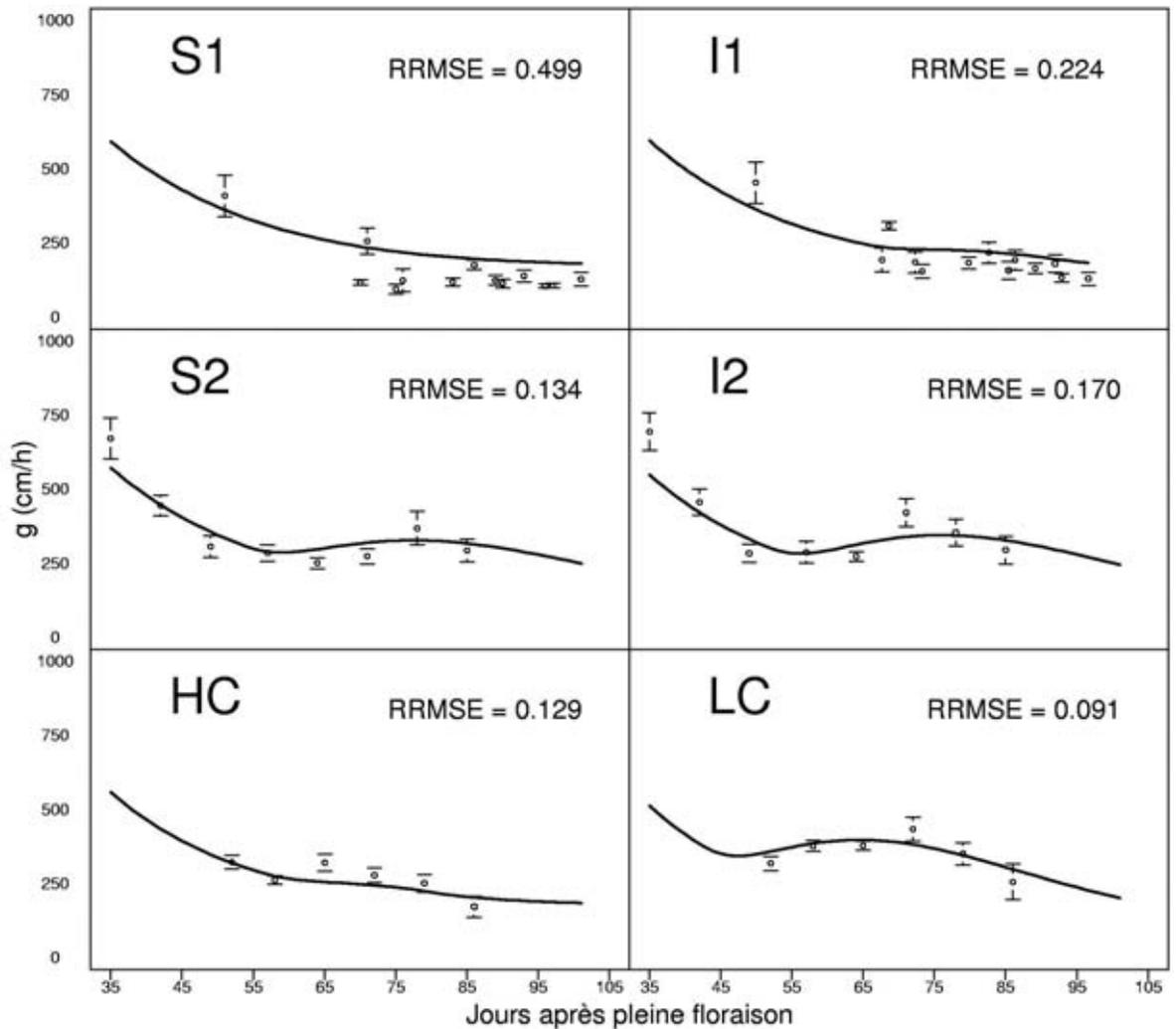


Figure 1. Valeurs de conductance totale observées et simulées pour des fruits d'arbres stressés (S1) et irrigués (I1) en 2002, stressés (S2) et irrigués (I2), avec une faible (LC) et une forte charge en fruit (HC) en 2003. Pour les observations, les valeurs moyennes (cercles) et les bornes inférieures et supérieures de l'intervalle de confiance à 95% sont représentées. Les lignes représentent la conductance totale simulée par traitement avec le modèle. L'erreur relative (racine de la moyenne de la différence entre valeurs observées et simulées au carré divisée par la valeur observée moyenne) est indiquée pour chaque modalité.

Expérimentations en lien avec le modèle

Ce modèle a été paramétré et testé grâce à des données recueillies en 2002 et 2003 sur la variété précoce de pêche blanche Alexandra®. Lors des expérimentations correspondantes, différentes modalités de gestion de la charge en fruits et d'irrigation ont été mises en place de manière à obtenir des croissances de fruit contrastées. Les valeurs de conductance ont répondu à ces traitements, les valeurs étant plus élevées lors de la phase de croissance rapide pour les fruits soumis à une faible charge ou à une irrigation importante (forte croissance) (Fig.1). La figure 1 montre une bonne conformité entre conductances simulées et observées pour les différents traitements.

Analyse du modèle : évolution de la densité de craquelures

Selon nos simulations, lorsque des craquelures sont présentes, leur contribution à la conductance totale augmente fortement durant la phase de croissance rapide du fruit et peut atteindre 60 %. La densité de craquelures maximale, atteinte vers 65 jours après la pleine floraison, serait la plus importante (égale à 20 %) pour les fruits issus de la modalité où la croissance a été la plus forte (faible charge : LC), de l'ordre de 15 à 18 % pour les modalités ayant débouché sur des croissances modérées (S2 et I2) et inférieure à 3 % pour les modalités ayant produit de faibles croissances (HC et I1). D'après le modèle, aucune craquelure n'aurait été formée sur les fruits issus de la modalité S1 (Fig. 2).

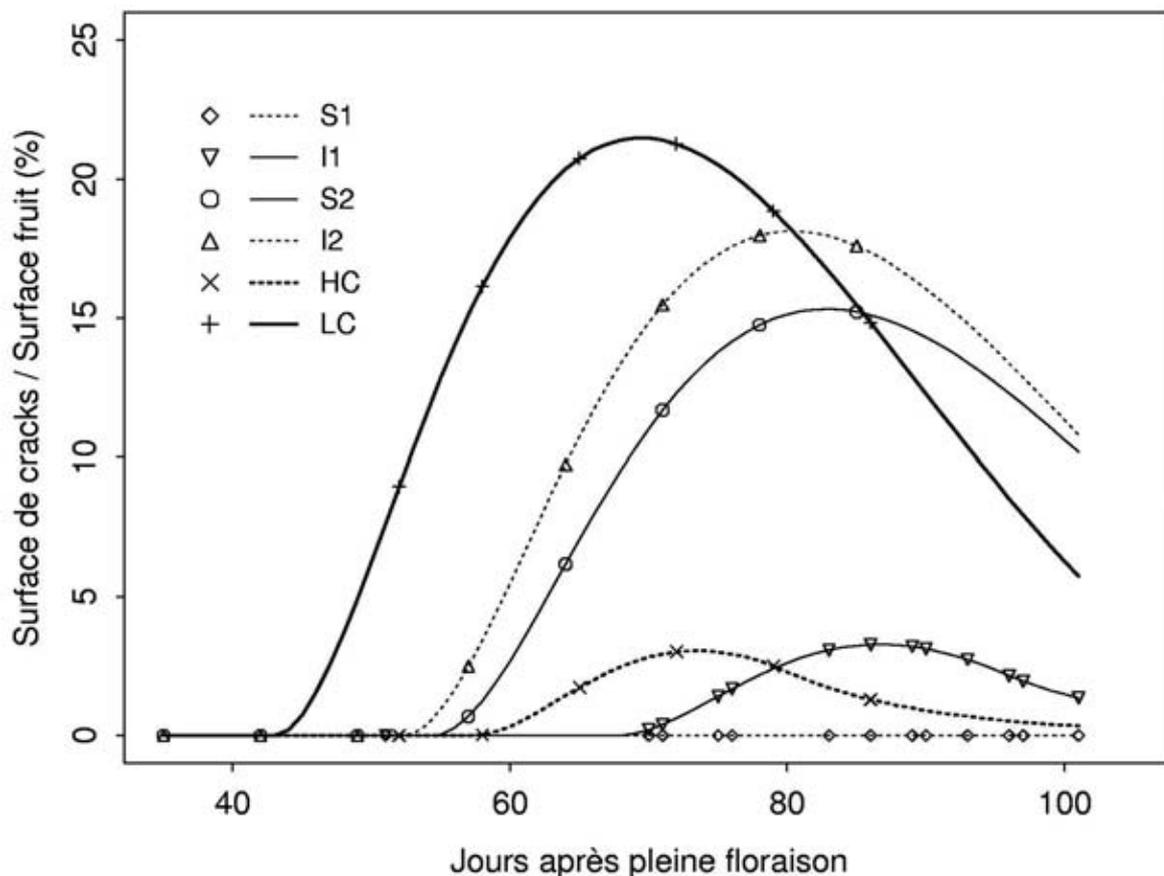


Figure 2. Evolution de la surface de craquelures par rapport à la surface totale du fruit sur des fruits d'arbres stressés (S1) et irrigués (I1) en 2002, stressés (S2) et irrigués (I2), faible (LC) et forte charge (HC) en 2003.

Travaux en 2004 et perspectives

En 2004, de nouveaux essais ont été mis en place sur les variétés Alexandra (pêche précoce) et Zéphir (nectarine tardive) pour poursuivre l'étude de l'effet de la gestion de la charge et de l'irrigation sur l'évolution de la conductance cuticulaire des pêches et leur composante « craquelures ». Des *observations et comptage de stomates* et des *observations de craquelures* tout au long de la croissance des fruits ont été réalisées pour la mise à l'épreuve du modèle. Enfin, des *contaminations artificielles* de *M. laxa* sur fruits détachés ont été effectuées, le mois précédent la récolte, afin d'étudier l'effet de la quantité d'inoculum sur le développement des monilioses. Les données sont en cours de traitement. En 2005, le travail de modélisation sera poursuivi sur la base des acquis, et le travail expérimental sera poursuivi sur cv. Zéphir avec un examen particulier du lien entre microfissures et contamination par les monilioses.

Liens entre mode de conduite de l'arbre, irrigation, performances agronomiques et développement des monilioses

Introduction

Le pêcher est une espèce nécessitant une forte vigueur pour l'obtention d'une production économiquement rentable. Mais une vigueur mal contrôlée conduit à un excès de croissance végétative provoquant un auto-ombrage très défavorable à la qualité des fruits et par contre favorable au développement de maladies telles que les monilioses.

L'INRA, en partenariat avec le développement agricole, a démarré des expérimentations pour tester un nouveau concept de conduite du pêcher, la conduite en branche fruitière,

qui s'inspire des concepts de la conduite centrifuge du pommier. Cette conduite intègre une nouvelle intervention technique : l'arrachage manuel de jeunes pousses végétatives (Navarro et Plénet, 2002). Ce mode de conduite tend à positionner les fruits vers l'extérieur de la frondaison et à augmenter la porosité du couvert, ce qui est susceptible d'améliorer la qualité des fruits.

Par ailleurs, cette gestion de l'arbre et du complexe parasitaire qui lui est associé est en très forte interaction avec la gestion des intrants, notamment de l'eau. Le pilotage des apports d'eau doit permettre de moduler la croissance en fonction du développement du végétal. Il nécessite l'utilisation d'indicateurs: les mesures micromorphométriques du diamètre des charpentières (méthode Pépista).

Pour intervenir sur la qualité des fruits et la sensibilité du verger aux monilioses de manière significative, il semble nécessaire d'utiliser une combinaison raisonnée de techniques. Dans ce projet, nous avons étudié expérimentalement l'effet sur la qualité des fruits et leur sensibilité aux monilioses de la combinaison « conduite de l'arbre - irrigation » en 2003 et 2004.

Mise en œuvre et principaux résultats

Une parcelle de 3500 m² de pêchers plantés en 2000 (variété de nectarine jaune tardive, cv. Nectaross) a été découpée en 2003 en 4 blocs comprenant 4 traitements constitués d'une combinaison de 2 facteurs, taille et irrigation, avec chacun 2 modalités : taille classique (TAIL) ou arrachage manuel (ARR), irrigation selon bilan hydrique (IRR) ou selon micromorphométrie Pépista (PEP). Les traitements mis en œuvre en 2003 et 2004 ne pénalisent pas les temps de travaux en matière de conduite des arbres (ARR par rapport à TAIL), et permettent de limiter les quantités d'eau apportées à la parcelle à seulement 1/3 des quantités apportées pour la parcelle témoin (PEP par rapport à IRR).

Après 2 années d'essai, la vigueur des arbres ne paraît influencée ni par la restriction hydrique, ni par l'effeuillage important dû à l'arrachage manuel. Ceci indique qu'une restriction en eau et en organes végétatifs disponibles ne pénalise pas définitivement la croissance globale de la plante. Le pêcher aurait une capacité à développer une "récupération" de croissance après que celle-ci ait été momentanément limitée. La restriction hydrique pendant la phase de grossissement du fruit présente l'avantage d'améliorer à la récolte sa teneur en sucres ainsi que le pourcentage de fruits de premier choix (indemnes de défauts), en limitant légèrement mais non significativement le calibre des fruits. Le rendement n'est pas pénalisé par la restriction hydrique, en partie du fait de la limitation de la chute des fruits induite et particulièrement marquée au stade de la prématurité. Néanmoins, les stress hydriques provoqués ont été sévères, puisqu'ils ont rendu nécessaire un réajustement de l'apport d'eau au cours de la dernière phase de croissance du fruit; soit au début (2003), soit à la fin (2004) de cette phase. L'arrachage manuel ne modifie pas significativement le calibre du fruit et sa teneur en sucres à la récolte, par contre le rendement est nettement augmenté. Pour les années suivantes, il serait intéressant de chercher à limiter le rendement avec l'arrachage manuel pour essayer d'induire une amélioration de la qualité des fruits.

La combinaison des traitements innovants (restriction hydrique et arrachage manuel) tend à limiter la chute des fruits par rapport aux autres combinaisons ; en plus, l'arrachage manuel rend la plante moins exigeante en eau (interaction significative des traitements eau et taille pour la croissance des fruits).

En ce qui concerne l'impact de cette combinaison innovante des techniques, sur le complexe parasitaire et en particulier sur les monilioses, les résultats obtenus les premières années d'expérimentation sont en adéquation avec les hypothèses de départ. Sur les 2 années d'expérimentation, en moyenne la conduite des arbres par arrachage manuel permet de réduire de 54 % les attaques de monilioses par rapport à la taille classique. Cette réduction est d'environ 47 % pour les arbres conduits par Pépista par rapport à ceux conduits par bilan hydrique. Ces résultats montrent qu'il ne faut pas limiter la lutte contre les monilioses à l'utilisation des produits phytosanitaires. L'utilisation de plusieurs techniques complémentaires à la lutte chimique peut permettre de diminuer les attaques de

monilioses en verger et en conservation. Les résultats significatifs obtenus dans cette étude, sans utilisation de traitement fongicide contre les monilioses, en sont la démonstration.

Des hypothèses peuvent être émises pour expliquer ces résultats. La technique d'arrachage manuel permet d'augmenter l'ensoleillement au sein de l'arbre comme cela a été montré sur des pommiers en conduite centrifuge (Willaume *et al.*, 2004). Ce changement microclimatique au niveau du fruit joue sur la formation et la germination des conidies (Wilcox, 1989 ; Tamm et Fluckiger, 1993). Dans notre verger, l'utilisation du Pépista a abouti à retarder le déclenchement de l'irrigation et à diminuer les apports d'eau. Le diamètre des fruits à la récolte dans cette modalité est un peu plus petit que dans la modalité bilan hydrique mais les teneurs en sucres sont un peu plus élevées. On peut supposer que ces fruits présentent moins de craquelures et donc moins de portes d'entrée pour les conidies de monilioses présentes dans le verger. Ces hypothèses seront approfondies pendant les dernières années du programme.

Par contre, le contrôle à la récolte réalisé en 2004 sur un échantillon de fruits montre une plus forte attaque d'oïdium sur les fruits des arbres conduit en arrachage manuel (22,5 % par rapport à 12,8 % en taille normale). Cette maladie sera plus particulièrement suivie en 2005 pour trouver une explication à ces résultats.

PARTENAIRES

- C. Gibert, D. Plénet, M. Génard, G. Vercambre, L. Gomez, JC. L'Hôtel, N. Moitrier : INRA Unité Plantes et Systèmes de culture Horticoles, Domaine Saint-Paul, site Agroparc, 84914 Avignon cedex 9
- C. Bussi, V. Mercier, J. Besset: INRA, Unité Expérimentale de Recherches Intégrées, Domaine de Gotheron, 26320 Saint-Marcel-lès-Valence
- J. Chadoeuf, R. Senoussi: INRA, Unité de Biométrie, Domaine Saint-Paul, site Agroparc, 84914 Avignon cedex 9

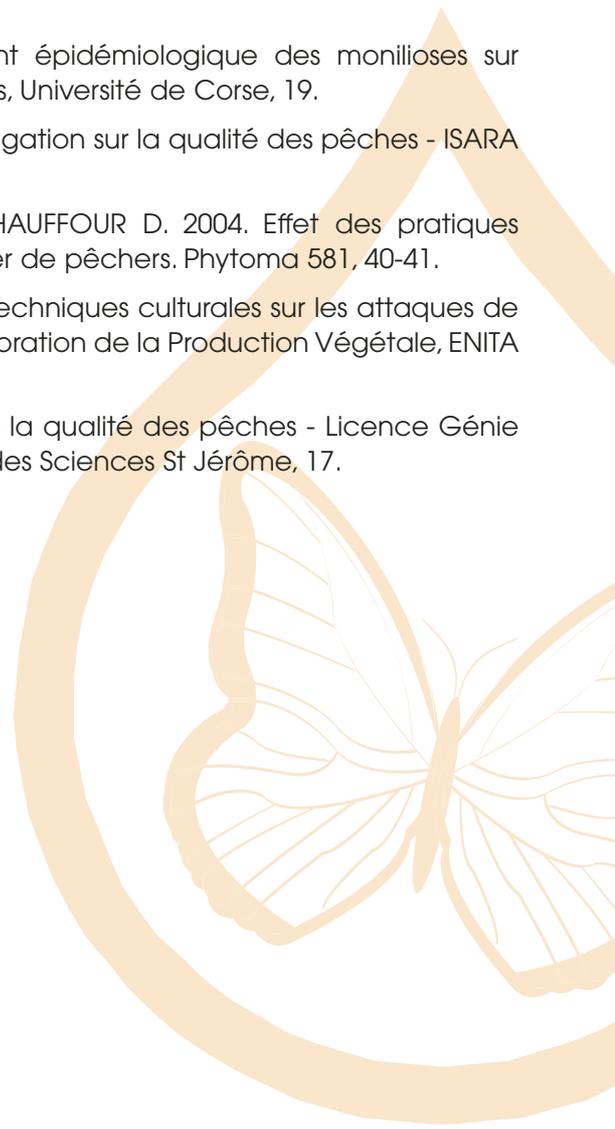
RÉFÉRENCES CITÉES

- ARNOUX M., 1979 – Maladie de conservation de la pêche, Les maladies des plantes, III^{es} Journée françaises d'études et d'informations, Eds. ACTA, pp 123-126.
- NAVARRO E., PLENET D., 2002 – Taille en vert du pêcher : l'arrachage manuel précoce des pousses végétatives est-il une technique alternative ? Réussir Fruits et Légumes 209 : 38-41.
- TAMM L., FLUCKIGER W., 1993 – Influence of temperature and moisture on growth, spore production, and conidial germination of *Monilinia laxa*. Phytopathology 83 (12):1321-1326.
- WILCOX W. F., 1989 – Influence of environment and inoculum density on the incidence of brown rot blossom blight of sour cherry. Phytopathology 79: 530-534.
- WILLAUME M., LAURI P. E., *et al.*, – 2004 Light interception in apple trees influenced by canopy architecture manipulation. Trees 18: 705-713.

PUBLICATIONS ET VALORISATIONS

- AMBROSINO S., 2003 - Réponse physiologique du pêcher à différentes modalités de taille et d'alimentation en eau des arbres - MST BAPV - Université d'Angers - Faculté des Sciences, 39.
- GIBERT C., 2003 – La croissance de la pêche (*Prunus persica* L. cv. Alexandra) a-t-elle une influence sur la conductance de l'épiderme ? - DEA APC, INA-PG, 21.
- GIBERT C., LESCOURRET F., GÉNARD M., VERCAMBRE G., PÉREZ-PASTOR A., 2005 – Modelling the effect of fruit growth on surface conductance. Annals of Botany, 95, 673-683.

- GUELDRY H., 2003 - Etude du comportement épidémiologique des monilioses sur pêcher - DESS productions animales et végétales, Université de Corse, 19.
- LAQUET P., 2004 - Influence de la taille et de l'irrigation sur la qualité des pêches - ISARA Lyon (69), 32.
- MERCIER V., GUELDRY H., NERAUDEAU E., CHAUFFOUR D. 2004. Effet des pratiques culturales sur les attaques de monilioses en verger de pêchers. Phytoma 581, 40-41.
- NERAUDEAU E., 2004 - Etude de l'impact des techniques culturales sur les attaques de monilioses sur pêcher - DESS Elaboration et amélioration de la Production Végétale, ENITA Clermont-Ferrand, 31.
- RIVIERE S., 2003 - Etude sur le déterminisme de la qualité des pêches - Licence Génie des Procédés, Université Aix-Marseille III, Faculté des Sciences St Jérôme, 17.





APR 2002

ECOBILAN DES LUTTES CHIMIQUES CONTRE LES LARVES PHYTOPHAGES DU SOL. RECHERCHE DE STRATÉGIES AGRONOMIQUEMENT, ÉCOLOGIQUEMENT ET SOCIALEMENT ACCEPTABLES.

COORDINATEUR SCIENTIFIQUE :

Patrick RAVANEL

UMR CNRS
Équipe « Perturbations
Environnementales et
Xénobiotiques »,
Université Joseph Fourier,
Grenoble I

38041 Grenoble Cedex

Tél. 04 76 51 46 77
Patrick.Ravanel@ujf-grenoble.fr

INTRODUCTION

Le travail engagé par les trois partenaires du projet financé par le MEDD concerne l'étude des modes de transfert et de métabolisation d'un insecticide relativement récent : le fipronil, utilisé largement en pelliculage de semences de maïs et tournesol contre les larves d'*Agriotes*. L'objectif est de comprendre les modes de circulation et de dissipation de cette substance active dans l'ensemble des compartiments naturels rencontrés par cette molécule, d'en caractériser les flux, d'en mesurer les incidences environnementales. Les compartiments susceptibles d'être concernés sont dans l'ordre : le sol et son complexe argilo-humique, l'eau du sol, les plantes qui sont en relation avec une eau potentiellement contaminée, la récolte, et enfin, l'atmosphère et les organismes en relation avec elle et la plante (ex. : les abeilles). Une part importante des études se déroulent au laboratoire, équipé de salles phytotroniques de culture, avec utilisation de la substance insecticide marquée au C¹⁴. Une deuxième partie, sous la responsabilité de l'ACTA, concerne principalement une étude d'impact en milieu clos (tunnels) sur des ruches et abeilles adultes butinant un pollen volontairement contaminé par du fipronil à doses déterminées. Enfin, le lycée agricole produit des plantes dont les semences sont pelliculées ou non, afin d'obtenir des plantes, en situations agronomiques, ce qui est pour nous une source des différents organes de ces plantes, utilisables à différents stades de croissance et de développement. Ces cultures servent à fournir du matériel pour l'analyse de traces, tout particulièrement ces cultures fournissent des quantités importantes de pollen en vue d'analyser si elles contiennent des molécules porteuse d'un pouvoir insecticide potentiel. L'objectif est de pouvoir mesurer le déplacement spatio-temporel de la substance active et de ses éventuels métabolites dans un agrosystème et de savoir si les flux de fipronil + métabolites sont encore porteurs d'une activité insecticide mesurable.

RÉALISATION D'EXPÉRIMENTATIONS, EN CONDITIONS CONTRÔLÉES, D'INTOXICATIONS VOLONTAIRES D'ABEILLES BUTINEUSES ADULTES FORCÉES À TRANSPORTER UN POLLEN ARTIFICIELLEMENT CONTAMINÉ À DES DOSES CONNUES DE FIPRONIL.

1) Expérimentations en tunnels clos. Les expérimentations ont été réalisées avec des abeilles domestiques de race locale au cours des mois de juin et juillet 2004 (environ 10 000 ouvrières par ruche et une ruche par tunnel). Six tunnels ont servi aux expérimentations. Une nouvelle expérimentation est programmée pour la saison 2005.

2) Nourriture artificielle. Chaque colonie est nourrie avec une solution de saccharose à 500 g/l. De l'eau est en permanence à disposition. L'apport en pollen a été effectué grâce à du pollen commercial multi-floral. Les

expérimentations se déroulent sur 4 semaines : les 2 premières semaines se déroulent partout avec du pollen témoin (phase d'apprentissage à l'espace confiné), la troisième semaine avec du pollen traité (sauf pour les tunnels témoins) et la dernière semaine voit le retour à un pollen témoin.

3) Traitement de pollen par le fipronil. Six tunnels indépendants se répartissent de la manière suivante : 2 tunnels témoins, 4 tunnels pourvus avec du pollen contaminé par du fipronil (deux doses et deux tunnels par dose). Le pollen multi-fleur est contaminé au laboratoire par paquet de 500 g, par pulvérisation d'une solution éthanolique de fipronil. Les deux doses appliquées donnent un pollen à 100 ppb d'une part et à 1000 ppb d'autre part. Ces deux concentrations ont été volontairement choisies dans des gammes de concentrations peu réalistes au plan agronomique, afin de s'assurer d'une activité insecticide aiguë mesurable. Chaque jour, les restes de pollen, de saccharose et d'eau sont systématiquement éliminés et remplacés.

4) Résumé des premiers résultats. La mortalité par tunnel est mesurée chaque jour dès la mise en expérimentation. Les individus morts sont quotidiennement récoltés, dénombrés et stockés à -20°C en vue d'analyse de traces (encore en cours). L'évolution du couvain est analysée suivant la méthode d'Oomen *et al.* (1992).

- **Mortalité.** La mortalité dans le tunnel témoin augmente au cours du temps (effet claustration). Dans les tunnels ayant reçu durant une semaine un pollen contaminé avec 100 ppb de fipronil, la mortalité n'est pas significativement différente de celle observée dans les tunnels témoins. Le traitement à 1000 ppb de fipronil entraîne une très forte mortalité (le nombre de cadavres est multiplié par 8 par rapport au témoin). Une recherche de fipronil dans ces cadavres est programmée. Considérant qu'une butineuse peut ingérer par jour entre 1 et 5 mg de pollen, ce résultat paraît cohérent, 5 mg d'un pollen à 10000 ppb représentant une dose proche de celle déterminée pour la DL50 par ingestion et par contact.

- **Activité de butinage.** La concentration de 1000 ppb réduit de manière drastique l'activité de butinage, ce qui n'est pas le cas pour la concentration de 100 ppb. A partir d'une certaine concentration, difficile à préciser pour l'instant, le fipronil, à des doses qui peuvent rester sub-létales, induit un comportement d'évitement. Cet effet répulsif semble se prolonger après le retour en tunnel d'un pollen non contaminé. L'activité de la ruche mesurée par comptage des entrées/sorties de la ruche est en cours d'exploitation.

- **Evolution du couvain.** Le taux de renouvellement du couvain est stable dans les tunnels témoins. Ce paramètre évolue nettement dans les tunnels traités. Cela indique que pour la dose la plus faible, des effets sub-létaux pour les individus adultes, peuvent se traduire sur le développement larvaire (effet intrinsèque, ou effet lié à une chute de l'approvisionnement en pollen pour les larves). A la vue de ces premiers résultats nous pouvons conclure que les doses de fipronil appliquées (qui seraient sans doute irréalistes dans des conditions de terrain), donnent les effets suivants : la dose de 100 ppb ne conduit pas à la DL50 entraînant la disparition de 50% de la colonie et que la dose de 1000 ppb affecte très gravement la survie des abeilles adultes et du couvain.

ETUDES EN CONDITIONS CONTRÔLÉES DE LABORATOIRE DES MÉCANISMES DE TRANSFERT ET DE MÉTABOLISATION À PARTIR DE SEMENCES PELLICULÉES.

Les semences de tournesol pelliculées par les semenciers dans le circuit commercial traditionnel sont additionnées, au laboratoire, de petites quantités de fipronil radioactif afin de faciliter les mesures de flux de transfert et la détection d'éventuels métabolites dans les différents compartiments rencontrés par la molécule insecticide étudiée.

1) Dissipation dans le sol et l'eau du sol. Nous avons démontré que le fipronil formulé dans un pelliculage très résistant à l'eau dans les conditions normales d'utilisation, était sous une forme très peu biodisponible car présent sous forme précipitée ou cristallisée au sein de la pellicule. Nous avons au préalable démontré que, lors du processus de pelliculage, la substance active ne rentrait absolument pas dans les réserves de la semence ni dans l'embryon.

Lors de la phase d'hydratation de la semence mise à germer, nous avons vérifié que le fipronil ne pénétrait pas directement dans la semence par le biais d'un éventuel mouvement d'eau à travers les téguments très lipophiles de la semence. L'accès de la plante à cette molécule ne peut donc se réaliser qu'à travers une capture racinaire via l'eau du sol ayant solubilisé un peu de fipronil. L'accès du fipronil à la semence en train de germer ne peut se réaliser qu'à travers une solubilisation difficile dans l'eau entourant la semence, cette eau était reprise par les jeunes parties néoformées à partir de l'embryon en train de se développer (accès aux jeunes racines et ébauche de tige). Nous sommes alors proche de la situation d'une culture cellulaire avec une solution aqueuse faiblement enrichie en fipronil. Au maximum, la concentration dans l'eau du sol ne pourrait dépasser la saturation pour cette molécule, à savoir 2 mg/l à 20 °C. Les règles de la partition, exprimée par le coefficient de partition ($\log P = 4$), expliquent par quel mécanisme le transfert purement physico-chimique peut s'établir entre l'eau du sol et la plantule en germination. Dans la réalité du terrain, la concentration en fipronil est bien inférieure à cette valeur de 2 mg/l car le complexe argilo-humique (CAH) qui retient l'eau du sol, joue un rôle très important dans l'adsorption du fipronil contenu dans l'eau entourant la semence. En effet, nous avons mesuré un K_d de l'ordre de 300 en faveur du complexe argilo-humique en prenant de la terre de La Côte St André (Isère) comme référence. Cela signifie que la partition CAH/H₂O joue en faveur du CAH, diminuant d'autant la présence de fipronil dans l'eau du sol. Dans les conditions d'une interface semence/eau/sol, la concentration en fipronil disponible pour la très jeune plantule est donc faible. La migration de cette molécule lipophile dans la jeune plante pourrait s'expliquer par un transfert de cellule à cellule par la voie symplasmique des membranes biologiques des cellules jeunes en contact avec le compartiment eau du sol et sol.

- **Evolution du stock présent au départ dans le pelliculage.** La charge en fipronil présente au moment du semis est de 1000 nmoles (environ 0,45 mg par semence). Nous avons suivi, dans des conditions de terrain, l'évolution de ce stock entre le semis et la fin de la culture. Six mois après le semis, il reste sur des téguments de semences pelliculées (facilement retrouvés au champ du fait de la présence du colorant bleu du pelliculage) encore près de 40 % de ce qui était présent au semis. Au moment de la floraison du tournesol (soit environ 75 jours après le semis), la quantité de fipronil qui a quitté le pelliculage est voisine de 30-40 % de la dose de départ. Cela signifie que 300 nmoles environ sont, à ce moment là, réparties entre le complexe argilo-humique, l'eau du sol et la culture.

- **Dynamique de transfert du fipronil vers le sol.** Le CAH, siège d'une vie microbienne intense capable potentiellement d'assurer une métabolisation du fipronil. Nous avons défini, (après avoir vérifié au laboratoire, la faible migration de la substance active sur des chromatogrammes réalisés sur plaques avec différents types de terre finement tamisée), des zones concentriques de sol autour des semences (zone S1 = sphère de 1 cm de diamètre autour de la semence, zone S2 = 8 cm de diamètre et zone S3 = zone allant jusqu'à 20 cm. Malgré une détermination des zones pas toujours aisée, nous constatons une décroissance de concentration très forte allant de la zone S1 à la zone S3. Plus on s'éloigne de la position des téguments, moins le sol et l'eau associée présentent une concentration mesurable de fipronil + dérivés. De la même manière nous constatons, au cours du temps une progression des métabolites : le sulfure-, le sulfoxyde-fipronil, l'amide (qui perd le pouvoir insecticide). Cette réalité a deux conséquences pour les plantes traitées : 1) au cours du temps la quantité de fipronil disponible diminue du fait d'une métabolisation (certains de ces métabolites gardent une activité insecticide et un potentiel de pénétration racinaire dans les plantes), et 2) la zone contaminée reste faible autour des semences ce qui fait que, lors de la croissance des racines, les racines actives vont sortir des zones contaminées et l'eau qui sera capturée par ces racines pour maintenir le potentiel hydrique du végétal sera pratiquement non contaminée ou contaminée par les métabolites relativement hydrophiles ayant perdu le pouvoir insecticide (formes amide, carboxylique, anilides)

2) Absorption - distribution au stade plantule. Cette absorption par la plantule dépend directement de la concentration en fipronil dans la solution aqueuse en contact avec la plantule en train de grandir. Au laboratoire, on démontre facilement que pour des plantules de tournesol ou de maïs vivant uniquement sur une solution aqueuse maintenue

à une concentration maximale en fipronil, ces plantules se chargent facilement en insecticide au gré de l'intensité du flux transpiratoire. Cette expérimentation n'a pas de réalisme sur le terrain. Après une période de croissance au laboratoire de la jeune plantule durant laquelle la répartition du fipronil est relativement forte dans les racines (équilibre conditionné par le log P), la concentration du fipronil s'effectue dans les nouvelles feuilles formées. Le marquage des feuilles est en relation directe avec la concentration de l'eau absorbée pour compenser le phénomène transpiratoire. Ce chargement des parties aériennes foliaires se fait par le biais de la systémie xylémienne avec une rétention partielle des produits lipophiles dans les vaisseaux de bois caractérisés par la présence de lignine elle-même lipophile. Dans une situation de terrain, la réalité des faits est plus complexe du fait d'une solution du sol qui devient de plus en plus pauvre en fipronil pour des raisons spatiales (racines sortant des zones contaminées) et temporelles car la métabolisation au sein du CAH réduit dans le temps le pouvoir insecticide.

3) Absorption – distribution vers les parties aériennes et les inflorescences du tournesol. A partir de semences traitées classiquement et supplémentées avec une quantité de fipronil radioactif (qui ne change pratiquement pas la dose par graine), nous avons conduit en serre une expérimentation sur 7 plantes cultivées individuellement dans des pots suffisamment grands pour permettre une croissance racinaire importante. Ces plantes ont été conduites jusqu'à la production d'inflorescence et de pollen. Ensuite les plantes ont été décomposées en leurs différents organes. D'une manière globale, les quantités de fipronil + métabolites présentes dans les parties aériennes sont de l'ordre de 1% de la quantité présente dans la pellicule (soit 10 nmoles). Cette quantité se répartit approximativement de la manière suivante :

- 5 nmoles dans les 10-12 feuilles du bas, feuilles qui au moment de la floraison sont physiologiquement inactives (sèches) et dans l'incapacité de redistribuer vers d'autres parties de la plante leur contenu. Ces feuilles se sont chargées lorsqu'elles étaient actives, par la voie du xylème. Un gradient de concentration est très nettement marqué. Plus une feuille est proche du sol plus elle est marquée, ce qui est bien en accord avec la dynamique de croissance des racines qui échappent au cours de la croissance aux zones du sol contaminé.
- Dans les parties supérieures de la plante (feuilles encore actives, entre le niveau 15 et 40 et inflorescences), la quantité est de l'ordre de 5 nmoles avec 4 nmoles pour l'ensemble des feuilles encore photosynthétiques et 1 nmole dans l'ensemble de l'inflorescence. Au moment de la production du pollen, l'inflorescence a déjà une masse considérable de l'ordre de 300 g (masse fraîche) avec une quantité de pollen qui ne dépasse pas 300 mg par inflorescence. Si la répartition dans l'ensemble de l'inflorescence est homogène cela signifie que ces 300 mg de pollen contiennent de l'ordre de 1 pmole de fipronil + métabolites. Si toute cette quantité (qu'il reste à mesurer plus finement) est porteuse d'une toxicité aussi forte que celle du fipronil, cela signifie que chaque butineuse, pour atteindre la DL50 (mesurée à environ 5 ng/individu), devra subir le transfert total du contenu de 3 grammes de pollen en une période de floraison qui dure de l'ordre de 10 jours. Cela apparaît largement impossible pour des raisons de masses à transporter et pour des raisons de transfert entre les grains de pollen et les insectes.

4) Possibilité d'un transfert phloémien du fipronil. Lors de la mise en place de l'inflorescence, un transfert très important de matière organique (saccharose et acides aminés) a lieu depuis les feuilles supérieures encore fonctionnelles de la plante (zones sources) vers les zones en construction de l'inflorescence (zones puits). Pour accéder de manière efficace et en quantité à ces zones en construction par le biais de la circulation de la sève élaborée un xénobiotique présent dans les feuilles doit avoir des caractéristiques particulières (avoir une lipophilie intermédiaire et/ou posséder une fonction carboxylique libre) permettant ce qu'il est convenu d'appeler « un piégeage d'acides ». Le fipronil n'a pas ces caractéristiques et sa circulation phloémienne en quantités importantes n'est pas réaliste. Parmi les métabolites détectés dans le tournesol une molécule carboxylée en position 3 de l'hétérocycle est détectée et est en situation

de se charger dans la sève élaborée. Nous avons vérifié que ce métabolite n'était plus porteur d'activité insecticide.

Sur des expérimentations de laboratoire nous sommes en train (dans le cadre de stage de M2R) de vérifier les conditions de ce chargement phloémien du fipronil que nous croyons pour l'instant non nul mais extrêmement faible.

En parallèle, à partir de plantes pelliculées et cultivées en plein champ, nous avons récupéré durant trois saisons (2002, 2003 et 2004) des quantités de pollen importantes (plus de 100 g chaque année) afin d'aboutir à une qualification et quantification crédible scientifiquement du contenu en fipronil + métabolites dans cette partie. Ces analyses sont en cours. Après extraction puis purification sur colonnes de silice et sur chromatographie sur plaques, une analyse chimique CPG-masse est effectuée par nos soins dans un laboratoire d'analyse de traces du CEA de Grenoble.

Les récoltes de pollen en grandes quantités sont effectuées au laboratoire. Il s'agit de cueillir en plein champ entre 250 et 300 hampes florales (50 cm, avec suppression des feuilles sommitales). Les plantes ainsi préparées sont maintenues en vie, en atmosphère calme et relativement fraîche, par trempage des sections dans une eau renouvelée périodiquement. Les inflorescences sont penchées vers le bas. Le pollen est récolté chaque jour pendant 10 jours sur du papier filtre après brossage manuel au pinceau des inflorescences.

RÔLE DE LA PHOTODÉGRADATION.

Les parties aériennes du tournesol subissent un fort éclaircissement dans la nature durant les périodes d'ensoleillement. Plusieurs auteurs ont décrit la photodégradation du fipronil sous UV et lumière solaire. Nous avons montré que le produit majoritaire issu de cette photodégradation (le desthio-fipronil) garde une très forte activité insecticide. Nous avons mené un certain nombre d'expérimentations pour mettre en évidence le maximum de produits issus de cette photodégradation afin d'en mesurer le pouvoir insecticide résiduel. Ces études dans l'eau sont un préalable indispensable pour comprendre si, en situation d'éclaircissement, à l'intérieur des plantes, ces types de photodégradations sont opérantes ou non. Les mesures de persistance de pouvoir insecticide sont effectuées au laboratoire grâce à l'utilisation d'un biotest que nous avons mis au point au laboratoire en utilisant des larves d'un moustique *Aedes aegypti* élevé en routine dans notre insectarium.

PARTENAIRES

- ACTA Station de Lyon et Le Lycée Agricole Départemental de l'Isère.

PUBLICATIONS ET VALORISATIONS

Publications référencées

- Chaton P.F., Ravanel P., Meyran J.C., and Tissut M. 2001 The toxicological effects and bioaccumulation of fipronil in larvae of the mosquito *Aedes aegypti* in aqueous medium. *Pesticide Biochemistry Physiology*, 69, 183-188.
- Chaton P.F., Liégeois M.H., Meyran J.C., Ravanel P. and Tissut M. 2002. Feeding behaviour of field strains of the wireworm *Agriotes* sp. (Coleoptera: Elateridae) under laboratory conditions. *Pesticide Biochemistry Physiology*, 77, 106-114.
- Chaton P.F., Ravanel P., Tissut M., Meyran J.C. 2002. Toxicity and bioaccumulation of fipronil in the nontarget arthropodan fauna associated with subalpine mosquito breeding sites. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 52, 8-12.
- Ajajoud A., Ravanel P., Tissut M. 2003. Fipronil metabolism and dissipation in a simplified aquatic ecosystem. *Journal of Agricultural and food Chemistry*, 51, 1347-1352

Publication non indexée

- Chaton P.F., Mauras R., Ravanel P., Meyran J.C., et Tissut M. 2003 Taupins, comment les larves attaquent (les stratégies phytophages de la larve d'Agriotes (Coléoptère, Elatériidé) sur la plantule de maïs), *Phytoma*, 557, 41-45.

Présentations à des congrès

- Aajoud A., Ravanel P., Tissut M. 2001. Métabolisation et dissipation du fipronil dans un écosystème aquatique simplifié. XXXIIème Congrès du Groupe Français des Pesticides (Marrakech, Maroc)
- Chaton P.F., Ravanel P., Tissut M., Meyran J.C. 2002 «Comportement alimentaire des larves de populations sauvages de taupins (Agriotes sp : Coleoptera, Elateridae) en conditions contrôlées.» Sixième Conférence Internationale sur les Ravageurs en Agriculture (Montpellier, France)
- Aajoud A., Raveton M., Chaton P.F., Liégeois M.H., Aouadi H., Ravanel P., Tissut M., 2003. Fipronil activity and degradation in different ecosystems. XXXIII^{ème} Congrès du Groupe Français des Pesticides (Aix-en-Provence, France)
- Tissut M., Aajoud A., Raveton M., and Ravanel P., 2003. Relationships between detoxifying plants and insects. Réseaux Coste. PRAGUE.
- Chaton P.F., Liégeois M.H., Mauras R., Meyran J.C., Ravanel P., Tissut M. 2003 The main characteristics of a chemical control of Agriotes populations. XXXIII^{ème} Congrès du Groupe Français des Pesticides (Aix-en-Provence, France)
- Aajoud A., Aouadi H., Chaton P., Raveton M., Willison J., Ravanel P. 2004.. Fate and insecticidal properties of fipronil. XXXIII^{ème} Congrès du Groupe Français des Pesticides (Dijon, France)

Rapports de stages de DEA

- Chaton P.F., 2000. Analyse de la distribution et des effets d'un insecticide de synthèse, le fipronil, dans des écosystèmes aquatiques simplifiés. Université J Fourier.
- Aajoud A. 2001. Devenir et toxicité du fipronil et de ses métabolites dans un écosystème aquatique simplifié et dans une culture de zygomycète (Cunninghamella bainieri). Rapport de DEA Université Joseph Fourier Grenoble.
- Aouadi H. 2004. Etude de la photodegradation d'un insecticide, le fipronil. Rapport de DEA. Université Joseph Fourier Grenoble

Thèses

- Chaton P.F. 2004. Etude du comportement alimentaire des larves du genre Agriotes (Insecta, Coleoptera, Elateridae) dans le but d'optimiser le contrôle chimique de ces ravageurs de cultures» 2004.
- Aajoud A. Devenir du fipronil en culture tournesol à partir de semences pelliculées soutenances prévues durant 2005

Rapports de stages de maîtrise et autres

- Etude expérimentale de la bio-accumulation d'un insecticide, le fipronil, dans les larves d'*Aedes Aegypti* (Diptères, Culicidés). 1999 Stage de maîtrise, Pierre François Chaton
- Etude du comportement alimentaire de la larve de taupin genre Agriotes et d'un traitement par appâts pour lutter contre ce ravageur, 2002, Stage d'IUT, Elodie Pernet
- Etude de la toxicité d'un insecticide : le fipronil, sur les larves de taupin (Insectes, Coléoptères, Elatériidés) 2003,. Stage de 2ème année du cycle préparatoire polytechnique, Rachelle Rouselle



APR 2002

CONDUITE INTÉGRÉE DU COLZA ET GESTION DU SYSTÈME DE CULTURE POUR LA RÉDUCTION DE L'UTILISATION DES PESTICIDES.

COORDINATEUR SCIENTIFIQUE :

Muriel VALANTIN-MORISON

UMR INRA- INA - PG
Agronomie

78850 Thiverval-Grignon

Tél. 01 30 81 53 51
Fax. 01 30 81 54 25
morison@grignon.inra.fr

OBJECTIFS DU PROJET

Le colza d'hiver est une culture présentant des intérêts agronomiques et environnementaux importants. Néanmoins, compte tenu de la pression exercée par différents ennemis de la culture, sa conduite nécessite un certain nombre de traitements phytosanitaires contre mauvaises herbes, limaces, insectes et maladies fongiques. Il est donc maintenant capital de travailler sur l'adaptation des systèmes de culture de manière à améliorer le bilan environnemental du colza sur sa composante « phytosanitaires ». Par rapport à l'ensemble des axes de travail qui permettent d'envisager une réduction de la pollution par les produits phytosanitaires, il s'agit ici de diminuer les quantités de produits utilisés, en favorisant la lutte culturale afin de réduire le risque « bio agresseur » et de n'utiliser les pesticides qu'en situation à risque important. Cette orientation est convergente avec la pression économique, le contexte européen incitant à préserver la compétitivité du colza en limitant le recours aux intrants.

Le programme concernera les itinéraires intégrés, et s'appliquera à gérer principalement les risques enherbement, phoma et sclerotinia, trois bioagresseurs jugés problématiques et dont la protection chimique est nuisible à l'environnement. Il s'appuiera sur les travaux menés jusqu'à présent sur deux types de productions (conventionnelle ou biologique). Les fortes interactions entre techniques et entre états du milieu imposent de recourir à la modélisation pour la **mise au point d'itinéraires innovants**. En effet, certaines techniques ayant des effets antagonistes sur plusieurs états du milieu, une prévision quantitative des effets de ces techniques implique leur intégration dans un même modèle numérique. A titre d'exemple, les travaux analytiques ont montré qu'une forte absorption d'azote à l'automne, fonction de la date de semis et de l'histoire culturale de la parcelle, a un effet favorable du point de vue de la maîtrise des mauvaises herbes, mais défavorable du point de vue du risque lié au phoma. Seule l'intégration dans un modèle numérique permet de prévoir les effets de différentes combinaisons date de semis*disponibilité en azote à l'automne*conditions climatiques automnales. Le programme consistera sur ce plan à (i) acquérir des connaissances complémentaires sur les effets de systèmes de culture sur certains bioagresseurs jugés comme prioritaires, (action A), afin de les intégrer dans le modèle, (ii) établir une synthèse sur les connaissances acquises et, à partir des résultats existants, des résultats nouveaux obtenus dans le cadre du programme et de la littérature, bâtir le modèle global composé d'un module agronomique (Action B1) et un module décisionnel (Action B2), (iii) Élaborer les itinéraires techniques intégrés à partir du modèle, évaluer leurs résultats économiques et environnementaux et les confronter aux pratiques actuelles, qu'il aura fallu au préalable inventorier et évaluer (action C).

Colza, bio agresseurs, réduction des pesticides, protection intégrée, système de culture, lutte culturale, modèle, outil d'aide à la décision.

RÉSULTATS ET PRINCIPAUX ACQUIS:

Les principaux résultats concernent l'action A et B de ce projet.

Action A

Concernant le phoma, deux types de travaux expérimentaux ont été entamés afin de tester l'effet de différents éléments de l'itinéraire technique sur les attaques de phoma. Les principaux résultats sont :

L'effet du travail du sol et de la rotation sur le développement de l'inoculum.

L'inoculum primaire de l'agent pathogène responsable du phoma (*Leptosphaeria maculans*) est produit sur des résidus de colza se trouvant à la surface du sol. Les opérations de travail du sol influencent donc fortement le cycle épidémique de la maladie. Des expérimentations ont permis de quantifier l'effet de différentes opérations du travail du sol (labour, semis, travail superficiel avec un cover-crop, une herse rotative ou un chisel) sur la répartition verticale des résidus de colza dans la couche travaillée. Elles ont permis de quantifier des différences de densités de périthèces (organes de la reproduction sexuée de *Leptosphaeria maculans*, agent causal du phoma) à la surface du sol pour différents systèmes de culture. Le principal résultat de cette expérimentation est que le type de travail du sol (labour ou travail du sol simplifié) n'a pratiquement plus d'importance dès lors que les résidus sont âgés d'au moins deux ans du fait de la décomposition et de la diminution importante de la reproduction sexuée du champignon avec l'âge des résidus. De plus, l'expérimentation a permis de quantifier les effets attendus concernant les déplacements verticaux d'inoculum par le labour. Par exemple, un an après la récolte d'un colza, il y a environ 20 fois plus de périthèces à la surface du sol pour un système de culture avec un travail du sol simplifié (environ 7000 périthèces/m²) que pour un système de culture avec labour après la récolte du colza et travail simplifié ensuite (environ 350 périthèces/m²).

L'effet de la date de semis et de la disponibilité en azote au semis et de la variété ainsi que l'interaction de ces techniques sur les attaques de phoma

Pour 2 années d'expérimentation, une forte disponibilité en azote à l'automne a engendré des nécroses plus développées à maturité physiologique. Par ailleurs, un semis précoce a permis de limiter les conséquences des contaminations automnales en décalant la phase de plus grande sensibilité du peuplement et les premières contaminations. Or les semis précoces sont généralement mis en place pour favoriser l'absorption d'azote dans les situations où les reliquats d'azote sont élevés. Dans ces situations, l'avancement de la date de semis présenterait donc l'avantage non seulement de limiter les risques de lessivage hivernal mais également de limiter la gravité des attaques de phoma. Il est intéressant de remarquer qu'une technique, telle la gestion de la disponibilité en azote du sol à l'échelle du système de culture, peut avoir des effets antagonistes selon les bioagresseurs considérés. Ainsi, les situations avec une forte disponibilité en azote à l'automne, alors qu'elle permet généralement un meilleur contrôle des plantes adventices, favorisent-elles le développement du phoma du colza. Un avancement de la date de semis par rapport aux dates habituelles semble en revanche être utile à la fois pour la maîtrise de certaines mauvaises herbes et du phoma.

Concernant les mauvaises herbes, aucun travail expérimental n'avait été envisagé ; Nous avons davantage valorisé les travaux récents sur les effets conjoints de la date de semis, la disponibilité en azote et la densité de peuplement sur la compétitivité du colza vis à vis des adventices.

Action B

Les acquis de connaissances acquis dans l'action B ont permis de construire différents modules conceptuels de ces deux bioagresseurs qui seront ensuite agrégés au modèle de culture. Le module phoma, développé par Jean-Noël Aubertot dans notre unité, comporte deux étapes : la simulation du nombre de macules en entrée hiver, et la simulation de la note G2, bon prédicteur des pertes de rendement liées au phoma. La prédiction d'un nombre de macules à l'automne permettra de prendre une décision sur l'opportunité d'un traitement fongicide et est en cours de paramétrage. L'étape 2 permettant de prévoir la sévérité des nécroses en fonction du nombre d'infections maximal par plante pendant la phase végétative, l'indice foliaire vert à l'entrée d'hiver, le temps thermique et les précipitations cumulées de janvier à mars, a été paramétré. Concernant le module «mauvaises herbes», nous avons ébauché un modèle plus simple qui rend compte de manière statistique des effets des pratiques sur l'évolution des densités d'adventices et de leur effet sur le rendement du colza. Ce module mauvaise herbe comporte trois phases, en lien avec le diagnostic et l'expérimentation : de l'automne (levée) à l'entrée hiver, de l'entrée hiver à la sortie hiver et de la sortie hiver à la floraison. L'étape 1 a pour objectif de faire le choix tactique d'un traitement herbicide de post-levée et de prédire la distribution de densité d'adventices par type d'espèce à l'entrée hiver. Lors de l'étape 2 la densité d'adventices par type à la sortie hiver sera simulée en fonction du climat et de nos connaissances sur la sensibilité au gel des différents types d'adventices. Enfin en étape 3, nous souhaitons prédire de manière quantitative la densité par type à la floraison pour la relier à une perte de rendement (nuisibilité tardive). La nuisibilité des adventices dans la culture de colza est appréhendée à l'échelle du cycle cultural par la nuisibilité directe et à l'échelle de la succession culturale par la nuisibilité indirecte. La nuisibilité directe correspond à la perte de rendement de colza occasionnée par la compétition directe des adventices pour les ressources (eau, azote, lumière). Comme l'a montré le diagnostic, elle s'exprime principalement à deux moments clés du cycle cultural : l'entrée hiver et la floraison. Nous prévoyons de relier la densité totale d'adventices (en entrée hiver et à la floraison) à un indice de réduction de biomasse et d'INN. Cette méthode sera appliquée pour la nuisibilité précoce à la densité d'adventices en entrée hiver et pour la nuisibilité tardive à la densité à la floraison. La nuisibilité indirecte correspond aux nuisances occasionnées par les semences d'adventices produites pendant la culture de colza et qui lèveront dans les cultures suivant le colza. Elle est estimée de façon qualitative par la production de semences tout au long du cycle cultural annuel à l'aide de tables de production de graines. Les résultats numériques de modélisation sont en cours d'acquisition. L'ensemble de ces modules doit permettre de simuler de manière stratégique les effets combinés des techniques décidées lors de l'implantation (date de semis, azote, densité de semis, variété, travail du sol) et des décisions d'appliquer ou non un pesticide (fongicide, herbicide) sur la production pour différentes séries climatiques et différentes pressions de phoma ou différentes flores. Les sorties obtenues par itinéraire technique seront donc des distributions de pertes de rendement et de pertes de revenus, qui permettront de calculer une fonction de risque. Les itinéraires techniques simulés à l'issue du modèle seront également évalués au regard des indicateurs environnementaux lphy et IN du modèle Indigo. Chaque scénarios sera donc évalué sur un critère économique, et environnemental. En aucun cas ce modèle ne permettra de prendre des décisions de manière tactique une année donnée sur une parcelle donnée.

Action C

L'action C comportait une évaluation environnementale des itinéraires actuels et passés sur la base des enquêtes de pratiques faites par le Cetiom. Cette action a été commencée durant l'hiver 2004 et est encore en cours. Quatre types d'itinéraires techniques ont été identifiés et sont testés avec l'indicateur phytosanitaire lphy, développé par l'INRA de Nancy Colmar, dans plusieurs régions et plusieurs situations topographiques (proximité ou non de rivière, pente...)

PARTENAIRES	PERSONNES ENGAGÉES ET COORDONNÉES
INRA Grignon UMR d'Agronomie, INRA/INA P-G, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon	Jean-Noël Aubertot : aubertot@grignon.inra.fr 01 30 81 54 40
INRA/Université Pierre Mendès France BP 47 - 38040 Grenoble Cedex 9	Stéphane Lemarié : lemarie@grenoble.inra.fr 04 76 82 78 84
CETIOM centre de Grignon BP4, 78850 Thiverval-Grignon	Raymond Reau : reau@CETIOM.fr 01 30 79 95 59 Lionel Quéré : quere@CETIOM.fr 01 30 79 95 57

PUBLICATIONS ET VALORISATIONS

Effets des systèmes de culture sur les attaques de phoma

Publication scientifiques ou congrès

- Aubertot J.N., Crivineanu C., Le Floch D., Doré T., 2002. Analyse des effets de la date de semis et de la disponibilité en azote à l'automne sur le développement du phoma chez deux variétés de colza. 2002. Annales de la 2^{ème} Conférence Internationale sur les moyens alternatifs de lutte contre les organismes nuisibles aux végétaux, Lille, France, 4, 5, 6 et 7 mars: 122-129.
- Aubertot J.N., Crivineanu C., Le Floch D., Doré T., 2002. Analysis of the effects of the sowing date and nitrogen availability during autumn on blackleg development on two oilseed rape cultivars. 2002. Proceedings of the 13th Crucifer Genetics Workshop, Davis, USA, March 23-26 : 21.
- Aubertot J.N., Doré T., Lefloch D., Pinochet X., 2003. Cultural control: an alternative method for containing phoma stem canker (*Leptosphaeria maculans*) of oilseed rape. Proceedings of the 11th International Rapeseed Congress. 6-10 July 2003. Copenhagen, Denmark. Vol 3: 747-749.
- Aubertot J.N., Penaud A., Doré T., 2002. Reliable characterisation of pest populations is required to develop Integrated Pest Management strategies. Case study of blackleg disease in oilseed rape crops. 2002. Proceedings of the 7th ESA congress, Cordoba, Spain, July 15-18: 159-160.
- Aubertot J.N., Pinochet X., Doré T., 2004. Analysis of the effects of sowing date and nitrogen availability during vegetative stages on phoma stem canker (*Leptosphaeria maculans*) development on two winter oilseed rape cultivars. Crop Protection. 23 : 635-645.
- Gossende S., Penaud A., Aubertot J.N., Schneider O., Pinochet X., 2003. Evolution of soil surface oilseed rape stubble and their ability to produce spores of *Leptosphaeria maculans*: preliminary results. Proceedings of the 11th International Rapeseed Congress. 6-10 July 2003. Copenhagen, Denmark. Vol 4: 1166-1168.
- Schneider O., Aubertot J.N., Roger-Estrade J., Doré T., 2003. Analysis and modelling of the amount of oilseed rape residues left at the soil surface after different soil tillage operations.

Contribution to the Integrated Pest Management of phoma stem canker. Proceedings of the 7th International Conference on Plant Disease. 3-5 December 2003, Tours, France.

- Schneider O., Roger-Estrade J., Aubertot J.N., Doré T., 2003. Analysis of the effects of superficial and deep soil tillage on the vertical distribution of oilseed rape stubble: contribution to the Integrated Pest Management of phoma stem canker. Proceedings of the 11th International Rapeseed Congress. 6-10 July 2003. Copenhagen, Denmark. Vol 3: 854-856.
- Schneider O., Roger-Estrade J., Aubertot J.N., Doré T., 2005. Analysis and modelling of oilseed rape residue burial and return to the surface as a function of the soil tillage method used after harvest to control phoma stem canker epidemics. Soil and Tillage Research. Sous presse.

Publications à vocation de transfert

- Penaud A., Aubertot J.N., Schott J.J., Doré T., 2003. La note G_2 : un indicateur robuste de la gravité de la nécrose au collet. Oléoscope. 73 : 29-31.
- Aubertot J.N., Reau R., Dupeuble F., Grippon S., Penaud A., Pinochet X., Taverne M., 2003. Mise au point de la protection intégrée du colza : exemple du phoma (*Leptosphaeria maculans*). Oléagineux Corps gras Lipides. 10 : 202-207.
- Aubertot J.N., Dupeuble F., Taverne M., Reau R., 2003. Vers une protection intégrée du colza contre le phoma. Oléoscope. 73 : 22-25.
- Schneider O., Aubertot J.N., Roger-Estrade J., Doré T., Pinochet X., Penaud A., Reau R., 2004. Gérer les résidus de culture pour contrôler les maladies : cas du phoma du colza. Oléoscope 78 : 16-17.
- Valantin-Morison M., Ferré F., Quéré L. 2004. Comment améliorer la compétitivité du colza vis-à-vis des adventices ? Oléoscope. Dossier désherbage. Septembre 2004.

Modélisation

Publication scientifiques ou congrès

- Aubertot J.N., Pinochet X., Reau R., Doré T., 2004. SimCanker: a simulation model for containing phoma stem canker of oilseed rape through cultural practices. Proceedings of the 4th International Crop Science Congress. 26 September-1 October 2004. Brisbane, Australia.
- Primot S., Valantin-Morison M., Makowski D. 2004. Models for predicting high weed infestation in winter oilseed rape crops. Weed research (soumis)



APR 2002

VITICULTURE, VINS ET PESTICIDES.

COORDINATEUR SCIENTIFIQUE :

**Marie-Claude
BÉLIS-BERGOUIGNAN**

IFREDE-GRES, Université

Montesquieu Bordeaux IV,
av. Léon duguit
33 608 – Pessac Cedex

Tél. 05 56 84 85 53
belis@u-bordeaux4.fr

La présente synthèse rend compte des résultats d'étape de trois études complémentaires centrées sur la problématique environnementale liée à l'utilisation des phytosanitaires dans la filière vitivinicole et réalisées au cours des années 2004-2005 auprès de viticulteurs appartenant à plusieurs régions viticoles françaises. La première étude (Coord. : Bélis-Bergouignan) met en exergue les perceptions et comportements des viticulteurs vis-à-vis de l'adoption d'innovations environnementales. La seconde (Coord. : Nicourt) analyse la manière dont les nouvelles pratiques réduisant les risques phytosanitaires peuvent constituer un enjeu dans la construction de la qualité du vin. La troisième (Coord. : Teil) est centrée sur la mise en marché des vins associés d'une manière ou d'une autre à une qualification environnementale.

RESULTATS

Perceptions et comportements vis-à-vis de l'adoption d'innovations environnementales

Des préoccupations aux pratiques environnementales

L'enquête réalisée par voie postale en Gironde (750 exploitations de toutes superficies et tous types de vins) montre que les viticulteurs s'interrogent de manière croissante sur les effets non maîtrisés de la protection intensive des cultures par les phytosanitaires. Deux sujets les préoccupent tout particulièrement : la santé des utilisateurs (77 % des viticulteurs) et l'utilisation des produits phytosanitaires (70 % des viticulteurs). Dans ce contexte, le durcissement et la permanence des pressions réglementaire et sociétale peuvent représenter *a priori* une incitation favorable à la réduction des nuisances environnementales à condition que les viticulteurs soient à même de développer des innovations environnementales c'est-à-dire des innovations réduisant les dommages environnementaux et améliorant la durabilité écologique de leur environnement.

Dans la période passée, les phytosanitaires ont progressivement représenté (et représentent toujours) un domaine incontournable de solutions pour la majeure partie d'entre eux (si l'on excepte la viticulture biologique), leur utilisation étant effectuée dans des quantités assurant la protection totale de la production. La mise en oeuvre d'innovations environnementales confronte donc les viticulteurs à un problème majeur, celui du degré de rupture (risques encourus du fait de substitutions de technologies, baisse de la qualité des récoltes par diminution de l'usage des phytosanitaires) provoqué par ces innovations d'une part, et de leurs conséquences économiques d'autre part.

Ce qui nécessite qu'ils évaluent *a priori* les effets induits des innovations environnementales à la fois en termes de coûts supplémentaires engendrés et en termes de retombées techno-économiques de ces efforts environnementaux.

L'enquête fait apparaître de fortes disparités dans la fréquence d'adoption des innovations environnementales par les viticulteurs.

TYPES D'INNOVATIONS ENVIRONNEMENTALES	FRÉQUENCE D'ADOPTION (%)
Utilisation environnementale des avertissements agricoles	74,8
Modification des pratiques culturales	62,8
Collecte des emballages	53,4
Suivi des vignes	52,6
Nouveaux pulvérisateurs	51,2
Suivi parcellaire	47,0
Local de stockage des phytosanitaires	43,2
Outillages agricoles	42,0
Station météo	34,3
Aire de lavage	34,2
Station d'épuration	31,1
Utilisation de l'électronique	22,8
Protection de la vigne par confusion sexuelle	14,8
Diagnostics environnementaux	13,4
Aucune	5,5

La trajectoire environnementale des viticulteurs est surtout associée à la modification de leurs pratiques productives et s'appuie peu sur l'adoption de nouveaux équipements fixes.

Les freins au développement des innovations environnementales

- Les réalisations sont fortement dépendantes du degré de connaissance qu'ont les viticulteurs de ces innovations : manque de confiance dans la fiabilité des technologies (40 % des viticulteurs) ; manque de connaissance sur les performances des procédés (54,6 % des viticulteurs) ou sur les moyens de mise en œuvre (40 % d'opinions incriminant ce motif).
- L'utilisation de nouvelles méthodes (diagnostics environnementaux), de nouveaux produits ou équipements (bacs de stockage, stations d'épuration) est conditionnée très fortement par les opportunités / facilités d'accès des viticulteurs à ces nouveautés et par leur capacité à juger de la fiabilité et de l'efficacité de ce qui leur est proposé. Cette aptitude à juger par eux-mêmes étant pour l'instant défailante, elle doit nécessairement être renforcée par le recours à des informations, mais surtout à des expertises extérieures.
- Les anticipations sur les coûts et bénéfices induits de la démarche environnementale (77,2 % des viticulteurs) représentent l'obstacle principal à la mise en œuvre d'innovations environnementales, sachant que les retombées en termes de meilleure vente de leurs vins sont assez limitées (37,1 % de non réponses et 29 % d'opinions négatives).

Le contexte actuel : dépendance peu contournable vis-à-vis des phytosanitaires, baisse des opportunités technologiques des industries phytosanitaires et dépendance vis-à-vis des

fournisseurs d'intrants, restreint la diversité des solutions environnementales. Du coup, la réduction de l'usage des phytosanitaires (ou leur usage raisonné) représente la réponse jointe aux deux priorités exprimées : la réponse à l'intérêt privé qu'est la préoccupation de la santé des utilisateurs rejoignant la préoccupation collective d'amélioration de la qualité de l'environnement, tout en permettant des économies non négligeables en intrants.

Faisant suite à cette première investigation, les résultats préliminaires d'une enquête spécifique portant sur un ensemble de démarches collectives confirment l'intérêt (en termes d'engagement des acteurs, de performances environnementales et économiques) que présentent des démarches endogènes vis-à-vis de démarches imposées.

Les nouvelles pratiques réduisant les risques phytosanitaires : un enjeu dans la construction de la qualité du vin

La recherche est fondée sur l'hypothèse que les dispositifs qui visent à accroître la qualité des produits et des méthodes de production (et dans lesquels sont insérés des viticulteurs aux dispositions hétérogènes) influencent et homogénéisent leurs pratiques en ce qui concerne la gestion des pesticides. La question posée est alors celle de leur congruence et de leur appropriation par les viticulteurs. L'interrogation porte sur la capacité de ces dispositifs à fonctionner et à se poser comme modèles dans la perspective de répondre à de nouvelles demandes sociales, ici plus singulièrement celle d'un usage raisonné de la gestion des pesticides. L'analyse se focalise sur les pratiques de travail individuelles et collectives des viticulteurs, qu'ils soient engagés ou non dans des démarches de modération de l'usage des pesticides. Les résultats actuels émanent d'entretiens menés en Languedoc-Roussillon auprès de viticulteurs sociétaires de coopératives et de conseillers agricoles de secteurs ou spécialisés.

Quatre questions émergent de ces premiers résultats.

- *Qu'en est-il de l'usage des pesticides dans le travail réel des viticulteurs ?*

S'interroger sur l'usage des pesticides implique de prendre en compte la population réelle des viticulteurs au travail. Ainsi, les sociétaires des coopératives des premières enquêtes sont constitués d'une majorité de retraités (plus de 50 %), de 30 à 40 % de doubles actifs, et le reste - entre 10 et 20 % - de professionnels à plein temps. De telles catégories se distinguent-elles également par une différenciation de leurs méthodes de travail ?

- *Le contexte de crise actuelle et les mesures qui devraient être adoptées à court terme vont-elles influencer l'usage des pesticides au travers de la recomposition la population de ses usagers ?*

Si les doubles actifs et les retraités répondent massivement à la proposition d'une prime d'arrachage définitif d'environ 6000 euros/ha, ce qui est avancé par plusieurs viticulteurs enquêtés tout récemment, la population des viticulteurs réels pourrait évoluer sensiblement. Quelles incidences alors sur les pratiques de travail et en particulier l'usage des pesticides ?

- *Les problèmes de santé au travail liés à l'usage des pesticides mobilisent-ils les viticulteurs ?*

D'emblée, cette question apparaît problématique du point de vue des viticulteurs qui, lors des entretiens, cherchent à l'éviter. Cette difficulté d'expression renvoie au problème plus général de la reconnaissance du risque par les travailleurs qui lui sont soumis (une idéologie collective de défense bien analysée par la psychodynamique du travail). Les réponses des viticulteurs enquêtés passent le plus souvent par l'évocation du cas d'un tiers, et il faut relancer l'interrogation pour que le locuteur aborde son expérience. Ils évoquent alors des affections sanitaires, s'interrogent sur la mise en visibilité des méthodes de protection envers les riverains et évoquent, sur le thème de la dérision, des situations de risque sanitaire : viticulteurs invisibles au cœur d'un nuage de traitement, «

Schtroumph » épandant (viticulteur aux parties du corps visibles teintées de bleu par des produits probablement cuivrés), viticulteurs s'enduisant la peau du visage de crème pour se protéger, cette crème faisant écran et absorbant les produits épandus...

- *Quelle est la portée des démarches de normalisation (publiques et privées) sur les pratiques d'usage des pesticides ?*

La construction endogène des cahiers des charges semble centrale. Lorsque des viticulteurs ont questionné leurs pratiques en situation, par la constitution de collectifs restreints de volontaires - mettant en commun leurs expériences, l'étayant d'autres expériences collectives plus ou moins formalisées, et s'appuyant explicitement sur des expériences situées - le cahier des charges semble permettre une dynamique d'extension de la démarche à une population élargie et nourrir le questionnement initial.

A *contrario*, l'imposition de cahiers des charges vécus comme contraignants semble mettre en relief les différentes potentialités qualitatives de production des viticulteurs (aptitudes différenciées des parcelles à la mise en œuvre des pratiques proposées) et exacerber les distinctions sociales internes au milieu. L'imposition suscite, en retour, des réactions accentuant l'écart entre la réalité des pratiques et leur conformité affichée avec les exigences des prescriptions. Ces éléments pourraient se conjuguer avec des effets paradoxaux des textes du point de vue des résultats escomptés sur les pratiques d'usage des pesticides.

La publication du décret agriculture raisonnée (dont le niveau d'exigence est en deçà des normalisations existantes : Terra Vitis et Vinéalys) freine le développement de ces démarches volontaires, limite la population des viticulteurs et des caves coopératives impliquées et semble ralentir les dynamiques engagées. Au travers des exigences limitées du cahier de charges, les nouveaux postulants à la normalisation semblent surtout viser le simple renforcement de leur accès au marché.

Les démarches « qualité » qui s'expriment dans un souci de protection environnementale et sanitaire anticipent sur les délais laissés par les textes réglementaires. L'usage de la traçabilité chez les viticulteurs engagés dans ces démarches (qui enregistrent leurs pratiques, leurs achats et leurs stocks de pesticides), les amène à constituer des stocks de pesticides interdits d'usage. Ces stocks sont conservés dans des conditions souvent inadéquates avec les niveaux de risque environnementaux et sanitaires suscités. Ni l'administration, ni les fournisseurs de ces pesticides ne gèrent leur retrait après leur interdiction d'usage.

En conclusion provisoire : L'usage des pesticides interroge la notion de qualité et ses modes de construction, dans un contexte de forte dissociation entre viniculture et viticulture. Pour la viniculture, la préoccupation de réduction des pesticides est reçue comme un élément dans la construction de la qualité conditionnant, pour une part, la notoriété et la mise en marché. Pour ces viti/viniculteurs, qui commercialisent une part de leur production en cave particulière ou en bio, la question est posée explicitement. A *contrario*, pour l'essentiel des viticulteurs (coopérateurs ou livrant directement au négoce), l'utilisation des pesticides reste aujourd'hui garante de la qualité des raisins. La modération de leur usage vient alors de la volonté de diminuer les coûts de production. Cette réduction est vécue par la plupart d'entre eux comme un risque de production. Pour une minorité, il est pris, en s'appuyant sur des débats et des pratiques collectives, souvent dans un cadre de normalisation qui constitue aussi une ressource pour l'action ou, plus largement et dans un contexte très différent, de façon solitaire et discrète par les viticulteurs les plus fragiles économiquement.

Des vins « naturels » ?

De la prescription à la consommation

Cette partie du programme est centrée sur la mise en marché des vins associés d'une manière ou d'une autre à une qualification environnementale. Elle s'est donc intéressée à

l'ensemble des coordinations ou interactions qui permettent, assurent et entretiennent la circulation marchande de ces produits.

Des qualifications multiples et contradictoires

Le nombre des consommateurs intéressés par des vins à qualité environnementale est assez faible, dans tous les cas stable voire en régression. Il semble qu'il n'existe pas aujourd'hui une dynamique propre à générer une demande forte pour des vins à «qualité environnementale». Ce point doit être nuancé et explicité. Il existe certes une filière de vins ayant le label «raisins provenant de l'agriculture biologique» ; mais au dire de tous les acteurs, cette filière connaît des difficultés en ce moment. En dehors du type particulier de vin associés à l'agriculture biologique ou biodynamique, il n'existe pas en Languedoc-Roussillon de marché des vins à qualité environnementale.

Les *consommateurs* de vin interrogés ont presque tous déclaré que le vin était un produit naturel et que la seule qualité qui leur importait était celle du goût du vin. La qualification vin bio n'est pas synonyme de qualité pour eux. En revanche, les consommateurs de produits «bio» - ou assimilés, biodynamie par exemple - achetaient plutôt du vin issu de raisins de l'agriculture biologique comme produit festif, pour des repas entre amis et parce que c'était un produit bio (en général plus cher que d'autres vins jugés équivalents). La circulation des vins est donc polarisée : il existe une filière des vins sans qualification environnementale et une autre, «bio», ces deux pôles étant peu hybridés.

La filière de *distribution* bio juxtapose deux organisations : une filière locale faite de petits revendeurs pour des consommateurs souvent militants, dorénavant soumis à des pressions fortes de mise en conformité à des formes d'organisation leur permettant d'optimiser leurs coûts comptables, et une filière internationale (Europe du Nord ou Japon) très sensible aux prix de vente. Il n'est alors pas toujours facile de vouloir favoriser les circuits de distribution courts, locaux, tout en offrant une gamme de vins suffisamment variée et aux prix attractifs. La qualité environnementale des vins est une préoccupation pour les *producteurs*. De très nombreuses initiatives, très diverses, et sans guère de lien les unes aux autres se superposent ou s'hybrident (biodynamie, viticulture bio, labels de l'agriculture raisonnée etc.). Toutes ces démarches font l'objet de nombreuses discussions, controverses et interrogations de la part des producteurs. Cependant, si un grand nombre de producteurs se sentent concernés et adoptent parfois des mesures de protection de l'environnement, celles-ci ne sont que très rarement signalées au consommateur (aucune mention référant à ce type de production sur l'étiquette). Il existe un fossé entre les pratiques des producteurs et le produit qu'ils commercialisent. Selon eux, le bio ou la lutte raisonnée «ne se vend pas» ou nuit à la commercialisation.

Subir et attendre..... ou agir

La commercialisation du vin, indépendamment de toute qualification environnementale, recourt à deux types de qualification et donc d'organisation marchande : la première concerne plutôt les vins dits de masse tandis que la seconde concerne les vins dits «de qualité». Toutes ces qualifications ne sont pas agencées les unes aux autres et peuvent tantôt s'exclure mutuellement ou s'ignorer. Or, il semble que cette absence de liens, de hiérarchies, voire de formalisation, génère à la fois une certaine rigidité dans la commercialisation mais aussi une grande confusion et un manque de crédibilité envers eux. Depuis quelques mois, les distributeurs des vins à qualification bio ou biodynamie enregistrent une baisse de la demande. Trois types d'adaptation des producteurs sont observables : baisse des prix de vente, recherche d'autres débouchés et déqualification des vins en vins de table ou en vins d'appellation sans label de qualité environnementale, mise en oeuvre de circuits de commercialisation courts. Si l'on ne veut pas se résoudre à attendre, il faut chercher des moyens d'organiser la naissance de cet intérêt pour des vins à qualification environnementale, sans pour autant, ainsi que beaucoup le craignent, que cette qualification ne fasse apparaître l'ensemble des vins comme étant des vins «sales». Un premier moyen d'action, l'adoption d'une norme environnementale beaucoup plus sévère pour les vins, semble difficile à imposer (émergence de doutes à la fois sur les AOC

et sur la pertinence d'une telle norme ; questions difficiles et donc longues à trancher ; gestion des stocks et encours à organiser). Il semble donc préférable de chercher un autre moyen d'action, en particulier un moyen d'articuler les deux qualifications environnementale et gustative des vins afin d'éviter leur confrontation. Enfin, il semble que les multiples procédures de signalisation de la qualité environnementale doivent être elles aussi articulées les unes aux autres, différenciées ou hiérarchisées selon les cas, afin d'éviter toute confusion et au final une perte de crédit dans les démarches.

VALORISATIONS

Transférer des actions-pilote

Les acteurs pertinents (Agences de l'eau, administrations, organisations d'usagers, organisations professionnelles, instituts de recherche et experts) pour favoriser la mise en place des technologies environnementales sont déjà réunis au sein des G.R.A.PPP (Groupe Régional d'Action contre la Pollution par les Produits Phytosanitaires), constitués sur la base de leur proximité géographique. Mais cette démarche ne suffit pas, car ces groupes souffrent, entre autres, de l'absence de protocoles communs, de référentiels scientifiques ou réglementaires et d'un manque de coordination interrégional. Le suivi d'une action-pilote réalisée en Gironde a permis de mettre en évidence le rôle de « passeur de l'innovation » d'une technopôle. En relation avec ses missions, cette dernière a permis de proposer une palette de réponses diversifiées (à la création, la diffusion et la mise en œuvre des innovations environnementales par l'utilisateur final) tout en coordonnant les acteurs précédents autour de la détermination d'indicateurs économiques et environnementaux d'évaluation de ces technologies. Cette expérience d'activation du potentiel de la proximité géographique par la mise en place de relations de proximité organisée est susceptible de transfert.

Développer des démarches collectives endogènes

Les démarches individuelles des viticulteurs trouvent actuellement leurs limites : investissements jugés trop lourds, manque d'expertises (scientifiques et technologiques), utilisateurs potentiels ne reconnaissant pas les expérimentations effectuées, difficulté à mobiliser les aides publiques à titre individuel, difficultés pour programmer les actions nécessaires etc. Dès lors, la mise en œuvre endogène de cahiers des charges autant que celles des techniques de surveillance des ravageurs semble d'autant plus pertinente qu'elle s'accompagne de pratiques collectives du travail. Débordant le cadre des démarches « volontaires » existantes, qui ne concernent qu'une fraction des viticulteurs, ces pratiques collectives doivent permettre de mettre en œuvre des mécanismes d'apprentissages en relation avec les institutions pertinentes (coopératives, syndicats). Elles sont susceptibles d'accroître l'expertise des individus autant tout en suscitant une dynamique d'interrogation sur la notion de qualité qui s'étend au-delà de la question de l'usage des pesticides (viniculture, commercialisation).

Mettre en place un dispositif d'intéressement des consommateurs

Raisonnement des multiples définitions du respect de l'environnement

Pour éviter un débat cacophonique, les différentes définitions de la qualité du vin et de la qualité de l'environnement peuvent être articulées les unes aux autres, parfois hiérarchisées, parfois différenciées. Ensuite, il importe de préciser comment et qui peut juger la qualité environnementale des vins. Trois organisations ont cours en matière viticole : une obligation de moyens avec la définition d'une norme ou d'un cahier des charges et le contrôle de son bon respect ; une obligation de résultat validée par un ensemble de professionnels reconnus compétents ; un résultat jugé par les acheteurs des vins qui acceptent alors de payer plus cher ce qu'ils jugent être de meilleures performances en matière de respect de l'environnement. Ces choix mènent à des organisations et des résultats tous bien différents les uns des autres dont il convient de tester et de raisonner la sélection.

Associer qualité sensorielle et environnementale

Les craintes d'un bouleversement de la procédure la qualification gustative des produits sont nombreuses et certainement fondées. C'est pourquoi il est probable que les propositions du Président de l'INAO, M. Renou, visant à introduire un supplément de qualification environnementale des vins à l'intérieur du dispositif de qualification sensorielle, est sans doute préférable à la solution inverse qui consisterait à proposer deux systèmes de normes séparés. Mais l'articulation précédente doit aussi être précisée : définition du respect de l'environnement statique ou dynamique ? Dans ce dernier cas, comment la procédure prendra-t-elle en charge l'évolution de la notion : définition explicite et choisie au sein des textes législatifs eux-mêmes, ou au contraire délégation à un ensemble d'experts ?

PARTENAIRES

- Geneviève Teil, INRA SAD APT Paris, teil@inapg.fr
- Christian Nicourt, INRA-TSV, INRA-TRAME, nicourt@ivry.inra.fr





APPELS À PROPOSITION DE RECHERCHE 1999

Les produits destinés à lutter contre les organismes jugés nuisibles¹, sont utilisés en quantités importantes, dans différents domaines d'application : en premier lieu l'agriculture, mais aussi la voirie (entretien des routes et des voies ferrées) et divers usages privés (jardinage, traitement de locaux,..). La France est l'un des principaux pays utilisateurs de pesticides, avec une grande diversité des substances actives et formulations commercialisées.

Les campagnes d'observation de la qualité des milieux, (eaux continentales superficielles ou profondes, destinées à la consommation notamment, eaux estuariennes ou côtières, eaux de pluie) mettent en évidence la présence de certains pesticides et de leurs produits de dégradation dans les différents compartiments de l'environnement, avec pour conséquence possible l'apparition d'effets non intentionnels². Pour cette raison, des cellules de conseil aux utilisateurs et de suivi *a posteriori* de la dispersion des pesticides dans le milieu ont été mises en place ; on peut citer divers groupes régionaux (CORPEP en Bretagne, CROPPP en Rhône-Alpes..) dont la création a été encouragée au cours des dix dernières années, le CORPEN qui vise à établir des recommandations pratiques, au niveau national, à partir de synthèses des connaissances disponibles. En 1992 trois ministères (Agriculture, Environnement, Santé) se sont associés pour constituer le « comité de liaison eau-produits anti-parasitaires ». Les premiers bilans partiels qui ont été réalisés sur les ressources en eau, en particulier par l'IFEN, montrent un accroissement préoccupant des concentrations en divers pesticides dans l'hydrosphère, y compris dans les eaux de nappes profondes ou dans les eaux de pluie.

Ces constats ne sont pas a priori de nature à remettre en cause les procédures d'évaluation préalables à la commercialisation des pesticides, mais montrent qu'il est nécessaire d'améliorer la prévision de leur comportement dans l'environnement et de mettre au point des procédures de biovigilance, *a posteriori*.

1 Dans cet appel à propositions de recherches, on désignera l'ensemble des molécules par le terme générique de pesticides ; ce qui représente tous les produits visant à la destruction d'organismes vivants (animaux, végétaux, micro-organismes...) ou au contrôle de leurs populations dès lors qu'ils sont utilisés à cet effet dans le sol, l'air ou l'eau, que ce soit pour les cultures, les élevages, le jardinage, les constructions, la voirie, etc... donc au-delà des usages agricoles.

2 Malgré les précautions prises avant la mise sur le marché des produits, grâce à la procédure d'homologation préalable, certains accidents n'ont pu être évités ; dans les années 60, on a constaté que les insecticides organochlorés perturbaient fortement certaines populations marines et continentales, d'où l'interdiction de la plupart de ces produits dans les années 70-80. Dans d'autres cas, certains produits recommandés en remplacement de produits anciens se sont révélés, à l'usage, trop rémanents ou trop toxiques, et sont également mis en cause. C'est dans ce cadre que les ministres chargés de l'agriculture et de l'environnement ont été amenés, ces dernières années, à interdire le dinoterbe et plus récemment le lindane, à restreindre l'usage de l'imidaclopride.

Le Ministère chargé de l'Environnement, conscient de tous les enjeux liés à l'usage des pesticides, et soucieux de prendre des mesures scientifiquement fondées, souhaite mettre en place **un programme de recherches visant à l'évaluation et à la réduction des risques liés à l'utilisation des pesticides.**

LES ENJEUX FINALISES DU PROGRAMME

Les enjeux de ce programme sont nombreux. Les recherches devront conduire à une meilleure connaissance des voies de dispersion, de transformation et d'accumulation des pesticides dans l'environnement, afin de concevoir les outils permettant de réduire leur présence dans celui-ci. Pour cela, il convient d'améliorer les pratiques d'usage, en agissant sur l'efficacité des traitements tout en limitant les effets négatifs de ces substances ; il est nécessaire d'évaluer les risques liés à l'utilisation des pesticides et les mesures préconisées pour en limiter les effets non intentionnels.

Parmi les actions auxquelles les résultats du programme doivent contribuer, on peut citer : l'aide à la mise en place de zones tampon, l'amélioration de certaines procédures d'homologation des produits, la surveillance de l'état de contamination de différents milieux, l'apport d'informations utilisables dans le cadre des négociations internationales du type « Mer du Nord », « convention sur le Rhin »...etc.

Ce programme de recherches est complémentaire d'un ensemble d'actions, de type observation et suivi, études, formation - concertation : bilan de la connaissance de l'état des milieux aquatiques réalisé par l'IFEN à la demande de la ministre de l'aménagement du territoire et de l'environnement (publication octobre 1998), diagnostics de bassins versants, études et recherches financées par les groupes régionaux, études des agences de l'eau, autres programmes de recherches en cours financés par le MATE et les organismes de recherches (PNETOX, programme national d'écotoxicologie - programme Environnement et Santé...).

Les projets de recherche proposés devront avoir pour objectif d'aider les gestionnaires et les pouvoirs publics à asseoir leurs décisions sur des bases scientifiques bien établies ; ils devront tenir compte des pratiques réelles : produits, doses, mélanges, périodes d'apports, ...

LES GRANDS DOMAINES COUVERTS PAR L'APPEL A PROPOSITIONS.

Maîtriser les risques que présentent les pesticides pour l'environnement suppose d'une part que l'on puisse prévoir et gérer, à différentes échelles d'espace et de temps, leurs concentrations et leurs effets sur les systèmes vivants et, d'autre part, qu'il soit possible de faire appel à des outils permettant la synthèse de données de nature variée. Il faut donc encourager en parallèle, et en recherchant dans la mesure du possible des convergences, les recherches dans trois domaines :

Dynamique des pesticides dans l'environnement : identification et quantification des voies de contamination et de dispersion, représentation de l'étendue et de la variabilité spatiale et temporelle de la contamination chimique, transferts et rétention dans les différents compartiments de l'environnement où les molécules peuvent être transformées et dégradées.

Evaluation des effets des pesticides sur des systèmes biologiques complexes : mesures de variables biologiques individuelles, analyse des effets en cascade à différents niveaux d'organisation biologique, conséquences sur les interactions entre espèces et sur les processus écologiques. L'accent sera mis sur l'étude des effets de faibles doses de produits et des synergies potentielles, entre pesticides et éventuellement avec d'autres produits.

Conception d'outils d'aide à la décision pour diminuer les risques environnementaux liés à l'emploi des pesticides, et de nouvelles techniques limitant l'usage de ces produits : démarches d'évaluation des risques, méthodes de protection intégrée des plantes, mise au point de méthodes alternatives.

Les projets regroupant des compétences sur plusieurs de ces thèmes seront particulièrement appréciés. Le comité se donne la possibilité de retenir toute proposition originale et d'organiser des regroupements.

Les projets concernant la bioréhabilitation de sites contaminés, ou l'utilisation d'organismes génétiquement modifiés sont exclus de cet appel à propositions.

Volet1 – Dynamique des pesticides dans l'environnement

Les projets proposés dans ce volet de l'appel à propositions devront être effectués en priorité sur des sites naturels « intégrateurs », c'est-à-dire des systèmes pour lesquels les connaissances sur le fonctionnement biogéochimique et les caractéristiques environnementales et socio-économiques permettront une description quantitative de la dynamique des pesticides. Il s'agit par exemple des réseaux hydrographiques, des bassins versants, d'estuaires et des zones côtières associées. Ils devront concourir à l'évaluation des flux et à l'établissement de bilans de masse de « pesticides-modèles » (*ce terme recouvre les composés chimiques représentatifs de différentes classes de produits majeurs utilisés et ayant diverses propriétés physico-chimiques et toxicologiques*) dans et entre les différents réservoirs géochimiques de l'environnement - eau air et sols. L'estimation des flux et des temps de résidence dans ces compartiments de l'environnement doit permettre de préciser et de hiérarchiser les différentes voies d'exposition des organismes vivants.

Les projets devront également aider à une meilleure représentation de l'étendue et de la variabilité spatio-temporelle de la contamination chimique de l'environnement par les pesticides ; à ce titre, ils devront contribuer à l'optimisation des protocoles opérationnels de suivi et des stratégies d'observation à long terme de la contamination.

Les projets contribueront à la mise en évidence des variables environnementales clés, ainsi qu'à la formalisation des observations sous la forme de modèles de prévision et de gestion, et d'indicateurs de risques parcellaires, utilisables pour la construction de systèmes de conseils aux utilisateurs.

Finalement, leur intégration dans des systèmes d'analyse des risques environnementaux ou d'autres systèmes de traitement de l'information devrait permettre des applications prédictives dans les études d'impacts et dans les simulations environnementales, ou la conception d'opérations de prévention visant à limiter les transferts.

Les résultats du présent volet du programme de recherches devraient apporter un soutien significatif aux deux autres volets.

Des projets de recherches sont demandés sur les thèmes suivants :

1.1 - Passage dans l'atmosphère et transport atmosphérique.

Il existe de plus en plus de résultats d'études montrant que les passages de pesticides dans le compartiment atmosphérique sont relativement importants³, ce qui peut affecter *in fine* les doses d'exposition des populations humaines, en particulier en milieu rural, et altérer, après dépôt, la qualité et éventuellement le fonctionnement des milieux naturels. L'objectif de ce programme n'est pas de financer la mise en place d'un réseau de mesures mais d'évaluer l'importance réelle de ce phénomène, d'identifier ses déterminants et de se donner les moyens de le contrôler. Parallèlement à la poursuite des mesures sur les réseaux disponibles, il est donc demandé de développer des recherches qui visent à :

- identifier les molécules et les raisons de leur présence dans l'atmosphère, les périodes et mécanismes d'émission en relation avec la nature des molécules, les conditions du milieu et les pratiques (modalités d'apport, état physique des sols, appareils de traitement et dérives éventuelles, volatilisation à partir du sol et/ou des dépôts sur les végétaux...)
- caractériser les modalités de transport, à l'échelle locale ou régionale afin d'évaluer, si possible, les distances de transport des résidus.
- élaborer des indicateurs d'exposition.

Les difficultés de l'échantillonnage et du dosage des pesticides sont nombreuses et rendent les recherches sur ce thème particulièrement difficiles. Le conseil scientifique sera particulièrement attentif aux projets associant des compétences en physique des transferts et en chimie analytique.

1.2 - Transferts dans les bassins d'alimentation des cours d'eau et des nappes ; dynamique de la contamination des milieux aquatiques.

Les milieux aquatiques, incluant les eaux souterraines, superficielles continentales et marines, sont très exposés à la contamination diffuse par les pesticides ; il faut donc promouvoir des recherches pour mieux représenter l'étendue et la variabilité spatiale et temporelle de cette contamination, et suivre les principales tendances. Il conviendrait d'étudier les relations entre les niveaux de concentration et l'utilisation des produits, et les relations entre les concentrations et les régimes hydriques.

Dans l'objectif d'identifier des zones et des pratiques à risques, une priorité sera donnée aux projets qui permettront de contribuer à l'établissement d'une typologie de sensibilités des sols au transfert des pesticides, notamment en s'intéressant aux questions suivantes :

-quelle est la part relative des transferts latéraux (ruissellement, circulation à faible profondeur) et des transferts verticaux ? De même, quelle est la part relative des transferts en solution et des transferts associés à des particules solides ou des colloïdes organiques ?

- quelles sont les voies préférentielles d'écoulement et quelles sont les variables susceptibles d'être facilement introduites dans des modèles afin de quantifier leur rôle, à différentes échelles : fissures à l'échelle de la parcelle, réseaux de fossés ou de drains à l'échelle des bassins versants ?
- quelles sont les cinétiques de dégradations des pesticides et/ou d'apparition de métabolites, *in situ* dans les sols ? comment paramétrer ces phénomènes et en tenir compte dans l'établissement de typologies ?

L'intégration des réponses à ces questions dans des modèles doit contribuer à une meilleure prévision des risques de contaminations des milieux aquatiques. Elle doit également permettre de proposer des aménagements pour protéger les milieux aquatiques :

-comment concevoir des zones tampons limitant les transferts vers les cours d'eaux ou les fossés (bandes enherbées, aménagement de parcelles, haies ou autres) ? est-il possible de préciser leurs caractéristiques et leur répartition dans l'espace, en tenant compte de l'importance des zones contributives au ruissellement, et d'évaluer la pérennité de leur rôle tampon, condition pour une réelle efficacité ?

L'estimation des flux au niveau des interfaces océaniques (apports par les grands fleuves) sera également encouragée, en appui aux engagements français dans le contexte des conventions internationales mais, dans un premier temps, seules des déclarations d'intention sont demandées.

1.3 - Rétention et dégradation dans les milieux aquatiques et terrestres.

Les cinétiques de ces deux phénomènes conditionnent à la fois l'efficacité de certains produits (pénétration dans les racines des plantes adventices, lutte contre des insectes ou champignons du sol) et leur persistance sous une forme ou une autre dans l'environnement, avec tous les risques de perturbation des communautés vivantes que cela comporte et, bien entendu, de transfert vers les milieux connexes. Il n'est pas demandé de procéder à des tests de dégradation biotique ou abiotique en conditions simplifiées mais plutôt d'envisager le devenir des résidus à un niveau minimum qui est celui de la parcelle. Il est souhaité que certains projets abordent l'extraction, la formation et le devenir des résidus non facilement extractibles, résidus liés, essentiellement du point de vue des phénomènes susceptibles de conduire à leur libération et/ou de les rendre biodisponibles. Ceci concerne aussi bien les sols que le compartiment sédimentaire, compte-tenu de son importance dans le cycle des produits et de ses particularités physico-chimiques. Des

études de laboratoire pourront être proposées dans le cadre d'approches couplées laboratoire-terrain, dans la mesure où elles permettent d'expliquer des observations effectuées *in situ* ou de simuler des conditions de terrain plausibles.

Compte tenu des caractéristiques des pesticides actuellement utilisés et de la somme de connaissances disponibles, la réalisation d'expérimentations portant sur la bioaccumulation de pesticides ne constitue pas une priorité de ce programme.

Volet 2 - Evaluation des effets chroniques des pesticides sur des systèmes biologiques intégrés .

Les effets des pesticides sur la santé humaine ne seront pas abordés dans le cadre du présent programme car ils relèvent du programme « Environnement-Santé » du MATE. On se limitera à l'étude de leurs effets sur la flore et la faune, et des dysfonctionnements des écosystèmes qui en découlent.

Les projets développés devront être menés en priorité sur des systèmes complexes, c'est à dire soit des dispositifs expérimentaux qui intègrent des constituants physico-chimiques et des organismes occupant des niches écologiques différentes, soit des sites de terrain. Dans le premier cas, il convient que la conception des dispositifs expérimentaux permette le déroulement de processus biologiques complexes (cycle des nutriments par exemple) et les interactions entre individus appartenant à une même espèce et/ou à des espèces différentes. Le cas échéant, il pourra être fait appel à des expérimentations dans des systèmes simplifiés (bioessais, tests monospécifiques, études *in vitro*, etc.) en vue de fournir des éléments d'explication des observations réalisées dans les systèmes complexes. Il s'agit ici de promouvoir des travaux conduisant à accroître les connaissances sur les points suivants:

2.1 - Analyse des effets des pesticides à différents niveaux d'organisation biologique.

Dans le contexte actuel, les données disponibles sur les effets des pesticides sur les organismes vivants concernent essentiellement les effets létaux, lesquels surviennent généralement pour des concentrations nettement plus élevées que celles observées dans les milieux naturels. Les études proposées devront donc simuler une exposition réaliste d'un point de vue environnemental (niveau, fréquence, durée) à différents niveaux au sein d'une même espèce (effets cellulaires et subcellulaires, performances individuelles, dynamique de la population) et, si possible, en considérant cette espèce dans le contexte de la communauté à laquelle elle appartient. Ceci devrait permettre la mise en évidence d'éventuelles cascades d'effets, lesquelles peuvent avoir des conséquences importantes au niveau des écosystèmes. Le recours à des travaux de laboratoire peut être envisagé mais uniquement s'ils viennent en appui d'une approche expérimentale se déroulant dans un contexte réaliste d'un point de vue environnemental.

2.2 - Effets des pesticides sur les communautés.

Les pesticides sont susceptibles d'altérer, par des effets directs et/ou indirects, les équilibres dynamiques⁴ au sein des communautés. Ces altérations peuvent s'avérer critiques pour l'écosystème concerné : anomalies dans la fragmentation de la matière organique morte, perte de productivité primaire, fragilisation par perte de redondance fonctionnelle, perte de résilience, etc... Les propositions de recherche ne devront pas se limiter à des inventaires faunistiques et/ou floristiques mais intégrer des descripteurs de la structure taxonomique (richesse spécifique, diversité, etc.), de la dynamique, de la productivité (biomasse, production secondaire, cycles de vie, spectre de taille et de biomasse, etc.) et de la structure fonctionnelle (diversité trophique par exemple) des communautés. Dans ce contexte, priorité sera donnée aux expérimentations portant sur des assemblages d'espèces placées dans des conditions environnementales réalistes, afin d'évaluer les effets

⁴ La structure des communautés vivantes est sous la double dépendance des facteurs du milieu et de facteurs biologiques (production, diversité des ressources, compétition, etc.), lesquels influent sur la fonctionnalité de ces entités écologiques et sur le fonctionnement des écosystèmes.

des pesticides sur leur évolution et notamment sur leur structuration. Par ailleurs, le fait que les communautés naturelles, du fait de l'anthropisation généralisée des milieux, présentent des caractéristiques particulières liées à leur "histoire écotoxicologique" devra être pris en compte dans les travaux réalisés *in situ*, pour l'interprétation des résultats.

2.3 - Effets des pesticides sur les micro-organismes des sols et des milieux aquatiques.

Les micro-organismes (bactéries, champignons, microalgues,...) constituent des éléments fondamentaux des cycles de la matière et de l'énergie dans les écosystèmes et, pour certains d'entre eux, des auxiliaires potentiels pour la lutte contre les organismes nuisibles. Les projets proposés dans le cadre de ce thème de recherche auront pour objet d'évaluer l'impact des pesticides et de leurs produits de dégradation sur les communautés de micro-organismes des terres cultivées et des milieux récepteurs. Une attention particulière devra être apportée aux paramètres fonctionnels mesurables sur ces communautés et sur leur réponse à la présence de pesticides. En particulier, les effets de ces derniers sur la minéralisation et la disponibilité des nutriments devront être abordés.

Les études traitant uniquement des phénomènes de biodégradation sont en dehors du champ thématique couvert par l'appel à propositions.

Remarque : *L'un des objectifs des projets de recherche développés dans le cadre des thèmes présentés ci-dessus devra être d'identifier des critères biologiques pertinents pour renseigner les outils d'aide à la décision (modèles, systèmes experts, etc.) tels que ceux évoqués dans le troisième volet du présent appel à propositions de recherches. Les molécules sur lesquelles seront effectuées ces études sont celles qui sont actuellement utilisées et, dans la mesure du possible, celles faisant l'objet de projets du volet précédent "dynamique". Une attention particulière sera accordée aux travaux sur des mélanges de produits (mélanges de matières actives, mélanges de matières actives et d'adjuvants entrant dans la composition des formulations, voire même mélanges de formulations).*

Volet 3 - Conception d'outils d'aide à la décision et de techniques visant à réduire les risques liés à l'usage des pesticides.

Ce volet de l'appel à propositions est destiné à susciter des recherches dans deux domaines, l'un sur des outils d'aide à l'évaluation des risques environnementaux des pesticides, l'autre sur l'élaboration des stratégies permettant de limiter l'emploi des pesticides.

3.1 - Outils d'aide à l'évaluation des risques environnementaux des pesticides, indicateurs de risques (déclarations d'intentions uniquement)

Des méthodologies plus ou moins complexes sont d'ores et déjà utilisées ou en cours de validation. Elles intègrent toutefois rarement des données issues d'observations et de recherches réalisées dans le milieu naturel ou dans des dispositifs expérimentaux proches de ce dernier. Devant les limites et l'aspect parfois arbitraire des méthodes utilisées, il existe un besoin évident de compléter les systèmes actuels d'évaluation des risques, en intégrant des éléments d'informations plus proches de la réalité (mais aussi plus difficiles à utiliser dans le cadre d'une démarche comparative) tels que par exemple les résultats générés par les deux premiers volets du présent appel à propositions de recherches.

Du fait du caractère pluridisciplinaire d'une telle évaluation, il est projeté d'initier au sein de la communauté scientifique un mouvement de réflexion avec, dans une première étape, un appel à déclarations d'intention permettant de mieux définir la communauté d'experts impliqués dans une telle démarche ou désireux de s'y impliquer. La constitution de groupes de travail réunissant ces experts (séminaires, conférences électroniques, etc.) devrait permettre d'affiner la formulation d'un appel à propositions sur ce thème précis de l'évaluation des risques.

3.2 - Conception de techniques limitant l'usage des pesticides

3.2.1. Diminution des quantités utilisées

Dans l'approche retenue, il est admis que la réduction des risques liés aux pesticides passe par une diminution de l'exposition des organismes vivants, à la fois en termes de durée et d'intensité. Ceci sous-entend soit une diminution des quantités directement apportées, soit un contrôle des voies de transfert, particulièrement en milieu sensible. Une part majeure des pesticides étant utilisée sur les cultures, la mise au point de nouvelles stratégies, économes en pesticides, de protection des plantes contre les maladies ou ravageurs entre dans le cadre de cet appel à propositions. Les stratégies proposées devront être examinées non seulement d'un point de vue biologique (efficacité contre les « ennemis » des cultures), mais aussi agronomique (cohérence avec les objectifs de production et les autres techniques agricoles) économique (conditions de rentabilité, coût de mise en œuvre...) et environnemental. En d'autres termes, elles devront contribuer à une évolution des systèmes agricoles dans le sens d'une agriculture durable.

3.2.2. Techniques de lutte non chimique

Les études auront pour objectif de connaître l'efficacité *in situ* des techniques de lutte non chimique, la détermination de leurs conditions de durabilité, la mise au point de leur complémentarité éventuelle avec les techniques de lutte chimique, et l'évaluation de leur impact sur la durabilité des systèmes agricoles :

- étude de l'efficacité et de la durabilité des techniques de lutte non chimique : méthodes physiques de lutte, lutte biologique, utilisation des résistances variétales (résistances à des maladies ou à des parasites)⁵, méthodes culturales. On privilégiera les études en conditions de milieu réel, en ayant soin de préciser l'importance et la représentativité des cas choisis (région d'étude, couple Hôte - Pathogène, type de système de culture...),
- étude de l'insertion des techniques de lutte non chimique dans les systèmes de culture : compatibilité avec les autres techniques culturales, les successions pratiquées ou économiquement envisageables ; compatibilité avec un objectif de maîtrise de la qualité des produits agricoles ; impacts environnementaux directs et indirects ; mise au point de systèmes de culture intégrant les techniques de lutte non chimique, en complément ou non des techniques de lutte chimique ; évaluation des conséquences de la mise en œuvre de ces techniques sur la réduction effective de l'emploi des pesticides et la pérennité des systèmes de production.

3.2.3. Evaluation socio-économique de l'usage des pesticides, et cahier des charges de solutions alternatives

Les études auront pour objectif de dégager les déterminants de l'utilisation de produits pesticides dans différents domaines, et d'identifier les conditions économiques, sociales ou réglementaires d'un développement de méthodes de protection chimique intégrée, ou de protection non chimique :

- étude de la gestion des risques phytosanitaires par les agriculteurs ou autres utilisateurs, leurs fournisseurs et leurs conseillers,
- étude de l'appropriation des outils de raisonnement de l'emploi des pesticides et de la circulation de l'information fournie par ces outils dans les réseaux de développement et de conseil. Une analyse des conséquences pour l'organisation de ces réseaux, les types d'outils et la nature des informations nécessaires à la vulgarisation des méthodes non chimiques sera faite.
- étude des freins à l'utilisation des méthodes non chimiques.

5 Dans cette partie, l'origine de la résistance est indifférente. En revanche, les recherches sur les mécanismes d'acquisition ou de transfert de la résistance ne relèvent pas de cet appel à propositions

Crédits photos : photothèque INRA

Couverture :

(photo de gauche) Plateau de Valensole, Alpes de Haute-Provence / CARRERAS Florence.
(photo de droite) Traitement de pesticides sur parcelles de céréales, région de Boissy les Perches (Eure et Loire) / WEBER Jean.

Session 1 :

Paysage du Cantal près de Salers / NICOLAS Bertrand.

Session 2 :

Traitement des cultures de laitue / PAILLARD Gérard.

Session 3 :

Vignobles du Vercors, à côté de Die / BEGUEY Alain.

Annexe :

Pâturages du domaine expérimental INRA de Marcenat en Auvergne / MAITRE Christophe.