

Accord Cadre ZABR - Agence de l'Eau

Fiche projet

Titre du projet : **Dynamique** des transferts et effets des **Micropolluants Organiques** persistants dans le fonctionnement d'une **Tourbière** alcaline en restauration (DynaMOT)

Personnes responsables :

Geneviève CHIAPUSIO (Délégation INRA, CARTEL, USMB)

Bernard DAVID (LCME, USMB)

Equipes de recherche « ZABR » concernées :

Equipe membre de la ZABR :

UMR CARTEL INRA USMB : Geneviève CHIAPUSIO (Ecologie chimique végétale)

LCME USMB : Bernard DAVID (Chimie aux interfaces)

UMR LEHNA CNRS UL : Sara PUIJALON (Biomécanique des plantes)

UMR IMBE CNRS Univ Aix Marseille : Steven CRIQUET (Microbiologie du sol)

Autre partenaire :

UMR ChronoEnvironnement CNRS UBFC : Philippe BINET (Microbiologie plante-sol)

Collaborateurs : CEN Savoie, CBNA (Conservatoire Botanique National Alpin)

Thème de rattachement ZABR :

Flux Polluants, Ecotoxicologie, Ecosystèmes (FPEE)

Thème de rattachement Agence de l'Eau et numéro de question :

Q 18 : Quelle vulnérabilité des eaux souterraines aux pollutions émises en surface et dans les sols ?

- ⇒ Approfondir les connaissances sur les conditions de transfert des polluants vers les aquifères, notamment dans la zone non saturée en analysant les facteurs favorisant ces transferts
- ⇒ Préciser les mécanismes de transfert, piégeage et stabilisation de certains éléments polluants d'origine anthropique, atténuation naturelle vers et dans les nappes

Site ou Observatoire de rattachement ZABR:

Site de Zones Humides

Site en Chautagne- Savoie (commune de Chindrieux, gestion par le CEN Savoie depuis 2016).

1-Finalités et attendus opérationnels (1 p. maxi) :

1.1 Finalités et enjeux

Ce projet interdisciplinaire se propose d'intégrer par une approche **muticompartimentale** l'évolution à deux ans de la dynamique de transferts des micropolluants du sol vers les eaux de ruissellement, la nappe, la végétation et l'atmosphère, en lien avec le gradient hydrique et la restauration d'une zone humide. Ce projet devra permettre d'évaluer l'évolution et le devenir des phytosanitaires présents dans les différents compartiments étudiés (Objectif 1) et d'identifier les mécanismes de réponse de la végétation et des communautés microbiennes liés aux différentes contraintes environnementales (Objectif 2). Le site sélectionné représente à ce titre un bon modèle d'étude car situé en Chautagne et donc intégré à l'hydrosystème fluvial rhodanien. Territoire multi-enjeux, la Chautagne et ses marais alcalins représente la plus grande zone humide de Savoie d'intérêt national. Cet ancien site agricole de 60 ha ayant fait l'objet de 30 années de culture du maïs est destiné depuis 2016 à être renaturé en prairie naturelle humide (zone tourbeuse alcaline) grâce à une restauration hydrologique par comblement des drains à l'aide de la tourbe du site. Le « décapage » du sol qui en résulterait pourrait également induire des effets biogéochimiques, par la remobilisation de pesticides archivés au sein d'une matière organique nouvellement mise au contact de l'atmosphère (émissions), du milieu aqueux (solubilisation, transport) et induire de nouvelles biodisponibilités pour les végétaux et microorganismes. Avant la phase « physique » de la restauration prévue pour 2018, une phase d'étude préalable avant-restauration a été réalisée en 2016 par le CEN (financement FEDER, Agence de l'eau). Elle comprend notamment des données pédologiques, hydrologiques, floristiques, et faunistiques. Dans ce cadre une étude préliminaire sur les polluants a été réalisée (projet tuteuré de master) qui a révélé un gradient de contamination au métolachlor entre le nord et le sud de la parcelle. Le prochain projet FEDER porté par le CEN est en cours de construction pour l'automne 2017 mais ne concernera que la phase physique de restauration avec acquisition de données, et non les mécanismes de fonctionnement mis en jeu.

Les données de la littérature montrent que le sol est un système complexe à l'échelle des agrégats où la matière organique, les nutriments, les microorganismes, les végétaux affectent le comportement, la biodisponibilité et les mécanismes de transfert/transport des phytosanitaires. Il est reconnu que les phytosanitaires fortement liés à la matière organique (résidus liés) peuvent être remobilisés ou/et devenir biodisponibles. Les paramètres impliqués dans ces processus ne sont cependant pas encore clairement identifiés. Les végétaux, premier maillon des réseaux trophiques, et les microorganismes du sol contributeurs essentiels aux cycles biogéochimiques apparaissent comme des indicateurs pertinents de la dynamique des communautés d'une zone humide. De plus, ils sont également impactés par la présence de phytosanitaires.

Dans le cas de tourbières présentant des pollutions du sol, le transfert des micropolluants organiques entre les différents compartiments du milieu (eau, sol, végétation, air) n'est que très peu évalué dans la littérature alors qu'il représente un enjeu sociétal et scientifique majeur (1). En France, des gestionnaires ont mis en place des reconversions de zones agricoles en zones humides tourbeuses pour du pâturage. Les critères de « bonne renaturation » sélectionnés se font essentiellement par rapport à la qualité floristique retrouvée. Les transferts des polluants vers ces espèces floristiques et les microorganismes associés restent peu connus : ces espèces d'intérêt patrimonial accumulent-elles ou dégradent-elles le cortège de micropolluants et de leurs métabolites présents ? La connaissance des paramètres physicochimiques du milieu sur le devenir des phytosanitaires dans des zones riches en matières organiques, où les gradients d'immersion du sol sont conséquents, restent donc encore limitée. Cela constitue donc toute l'originalité et l'enjeu de ce projet pluridisciplinaire.

1.2 Les attendus opérationnels

En première année (2018) :

- La réalisation d'une étude bibliographique scientifique incluant les rapports de gestionnaires d'espaces naturels en zones tourbeuses alcalines à l'échelle nationale (ex : réseaux des Conservatoires et des réserves naturelles de France, le pôle relais-tourbière).
- La caractérisation et la quantification des phytosanitaires et de certains de leurs métabolites dans les différents compartiments (eau, sol, végétation et atmosphère) en zone non restaurée (NR) et restaurée (R) seront réalisés au cours de 2 saisons.
- De ce diagnostic initial, il sera alors possible :
 - ✓ d'identifier des paramètres écologiques clés influençant les flux de micropolluants en zone humide tourbeuse
 - ✓ d'élaborer un protocole de suivi scientifique général (fréquence, durée, paramètres clés) permettant de déterminer l'évolution du système et qui pourra être partagé avec d'autres

gestionnaires. En fonction des résultats obtenus, des réajustements protocolaires pourront alors être décidés pour 2019.

In fine, une pré-évaluation du rôle joué par la zone humide en tant que puits (séquestration des micropolluants par la matière organique de la tourbe) ou source (transfert des micropolluants dans les eaux de surface et la nappe par lessivage des sols, la végétation, et l'atmosphère) sera déterminée.

En deuxième année (2019) :

Les résultats obtenus sur les deux années permettront de relier les mécanismes « chimiques » aux mécanismes « biologiques » dans le fonctionnement de la zone humide avec :

- La caractérisation de l'éco-dynamique des micropolluants présents (molécules mères et métabolites) dans les différents compartiments, et l'évaluation de la résilience du milieu (flux de phytosanitaires),
- La caractérisation et l'évolution du fonctionnement et des changements de la rhizosphère (<50cm) par le suivi des grands groupes fonctionnels microbiens et des mécanismes de réponse de la végétation, via l'étude des traits fonctionnels des plantes (stratégies racinaires, métabolisme de défense, interactions mycorhiziennes) face aux changements hydriques et à la nature des contaminants mobilisés.

Un bilan et une hiérarchisation des impacts de la restauration hydraulique du site sur le transfert des phytosanitaires dans le milieu sera présenté incluant des propositions d'indicateurs chimiques (profils ou signatures propres à chaque compartiment) et biologiques pertinents. Des points de vigilances pourront être ainsi proposés aux gestionnaires lors de travaux de reconversions de zones agricoles en zones humides. Par ailleurs, des modèles existants de la littérature (SOIL, LEVEL) basé sur des sols non humides seront testés dans le but de prédire les échanges de phytosanitaires entre les différents compartiments d'intérêt. Comme ils sont libres de droit, des modifications pourront y être apportées afin de prendre en compte les caractéristiques propres aux zones humides, avec l'ambition de valider et de l'appliquer à d'autres zones humides.

Les résultats de cette étude fonctionnelle sur le devenir des micropolluants dans une zone « modèle », permettront donc *in fine* de proposer des indicateurs chimiques et biologiques. Ces indicateurs seront donc transférables aux milieux humides alcalins où peu d'outils/données sont actuellement disponibles pour les gestionnaires (les tourbières acides étant actuellement les plus étudiées). A court terme, ces résultats serviront ainsi pour le site du marais de Lavours (discussion en cours avec F Darinot) mais également vers d'autres sites du bassin RMC. Ces données seront également comparées avec d'autres résultats obtenus sur des sites d'étude différents sur le bassin RMC (par exemple avec le projet « PENATH » (Pesticides et Nitrates dans les Alluvions anciennes : Etude des transferts en milieu hétérogène). A plus long terme, ce projet offrira des perspectives de recherche innovantes et appliquées, notamment avec l'utilisation d'outils de physiologie végétale (molécules indicatrices de défense des plantes) ou de biologie moléculaire microbienne (approche par ADN environnemental).

2-Objectifs et méthodologie :

2.1 Dispositif expérimental mis en place sur le site de Chautagne

- Les parcelles expérimentales sur le site seront constituées de **4 exclos** d'environ 1000m² chacun, choisis pour être représentatifs du site d'étude de 60 ha. Ces exclos seront dédiés à ce projet et délimités conjointement avec le CEN.

- **2 exclos Non Restaurés NR**, dont le sol n'aura pas été décapé mais aura subi une remontée de la nappe le long d'un gradient hydrique,
- **2 exclos Restaurés R**, dont le sol aura été décapé sur 10 à 15 cm, situés sur un même gradient hydrique,
- **1 exclos témoin T**, parcelle en zone agricole, n'ayant subi ni décapage, ni comblement de drain

Rem : Pour chaque exclos, 4 répliqués seront délimités à l'intérieur pour y effectuer les prélèvements.

- Lors de notre étude, la dynamique saisonnière sera évaluée sur l'été et l'automne
- Le gestionnaire (CEN Savoie) s'occupant de différents équipements sur site (piézomètres, station météorologique) et coordonnant des suivis biodiversité flore-faune, ce projet bénéficiera d'une infra structure déjà en place et de données complémentaires au projet. Pour chaque exclos, différentes données seront intégrées à notre étude dont les données météorologiques, le niveau de nappe, les températures et d'humidité de l'air et du sol. Nous compléterons par des analyses de caractérisation physicochimique du sol avec notamment les taux de matière organique (MO) et minérale dans les horizons <50cm, le pH (stabilité

chimique des polluants et métabolites), les teneurs en phosphore et azote (remobilisation potentielle pour la végétation et les microorganismes).

2.2 Objectifs et méthodologie

Objectif 1 : Evaluation de l'impact du milieu et des végétaux par les phytosanitaires : diagnostic chimique et dynamique des transferts multicompartimentaux.

Il s'agit dans un premier temps d'évaluer précisément l'impact des pesticides sur la zone humide, en réalisant un diagnostic initial sur les exclos. C'est une approche **multicompartimentale** avec un screening complet des composés phytosanitaires présents (molécules mères et produits de dégradation pour certains d'entre eux) dans **les eaux de surface** (drains), de **nappe**, le **sol** (horizons < 50 cm) et la **végétation** (parties souterraines et aériennes d'une angiosperme dicotylédones et une monocotylédone). L'impact du milieu **atmosphérique** sera évalué en quantifiant les émissions potentielles de pesticides présents en surface du sol (forme gazeuse et particulaire).

Ces « compartiments » ont été sélectionnés car des études antérieures ont montré que :

- il existe des transferts de phytosanitaires entre le sol et les eaux de surface et de nappe,
- les polluants organiques sont biodisponibles, bioaccessibles ou complexés à la MO (30 à 40%) du sol et peuvent changer de compartiment,
- le transfert et l'accumulation des polluants organiques et leurs métabolites dans la végétation dépendent des plantes cibles sélectionnées (Angiospermes monocotylédones vs A dicotylédones) et des parties (racinaires vs aériennes) (2),
- les flux de pesticides émis dans l'air dépendent principalement de la teneur en matière organique du sol et de la teneur en eau du sol (évapotranspiration), deux facteurs clés en zone humide (3).

L'identification des principaux paramètres écologiques influençant les flux de micropolluants en zone humide est donc également un objectif-clé de cette étude avec :

- En fin de première année: une évaluation de l'influence des saisons, du niveau de la remontée de la nappe et de la restauration des sols sur les processus de transfert.
- En fin de deuxième année: une évaluation de l'éco-dynamique des phytosanitaires présents dans les différents compartiments, sur deux années d'études, et évaluation de la résilience du milieu (flux de phytosanitaires).

Méthodologie : techniques d'extraction adaptées à chaque type de matrice initiale : eau, sol, végétal, air (ultrasons, micro-ondes, ASE, soxhlet, techniques de purification SPE), analyse phytosanitaires par GC/PDID, GC/MS, thermodésorption TD/GC/MS, et prévu pour 2018 la livraison d'une LC/MS (analyse des phytosanitaires et métabolites présents notamment en phase aqueuse en faible concentration). Le phénomène de volatilisation des pesticides, sous la forme de flux surfacique journalier émis, sera étudié grâce à un dispositif expérimental élaboré au LCME et déjà éprouvé sur le terrain (3).

Objectif 2 : identifier les mécanismes de réponse de la végétation et des communautés microbiennes à l'évolution des phytosanitaires, au gradient hydrique et à la restauration du sol

Il s'agit de comprendre le fonctionnement biologique de la restauration de la zone humide au travers de l'étude des végétaux et des populations microbiennes associées. Dans cette partie une attention particulière sera mise sur la rhizosphère car elle forme une interface biogéochimique hautement active entre racines, micro-organismes et constituants du sol. Les parties souterraines des plantes sont reconnues comme des organes fortement bioaccumulateurs.

Etude des mécanismes de réponse de la végétation à la restauration :

La prise en compte des mécanismes de réponse de la végétation aux contraintes écologique s'effectuera par les mesures de traits fonctionnels sur une végétation sélectionnée. Les deux plantes (Angiosperme monocotylédone, une A. dicotylédone) qui auront été sélectionnées précédemment, avec des comportements bioaccumulateurs différents vis-à-vis des polluants feront l'objet d'une étude physiologique plus approfondie.

- Caractérisation des **mécanismes généraux** de réponse de la végétation *via* les mesures de traits fonctionnels dans les communautés végétales (biomasse foliaire, racinaire...) face aux changements hydriques et à la nature des contaminants mobilisés. Pour cela, plusieurs espèces présentes dans les exclos seront analysées et sélectionnées en fonction des relevés de végétation réalisés par le CBNA.

- Caractérisation de mécanismes de **réponses physiologiques** chez deux plantes cibles (une Angiosperme monocotylédone, une A. dicotylédone). Les plantes produisent des métabolites de défense face aux changements environnementaux qui permettent de déterminer l'état physiologique de la plante en complément de sa croissance. Le fonctionnement de la rhizosphère étant déterminant, les systèmes racinaires seront ciblés avec :
 - la quantification des métabolites secondaires dans les parties aériennes et racinaires,
 - l'analyse des stratégies racinaires : densité racinaire, longueur et surface racinaire (exploration du sol),
 - l'étude du fonctionnement des interactions mycorhiziennes (intensité de mycorhization et dosage de la glomaline, une glycoprotéine spécifique des mycorhizes à arbuscules reconnue comme un indicateur pertinent du bon fonctionnement de la symbiose).

Méthodologie : Métabolites de défense (méthode colorimétrique de Folin, Bradford), exploration racinaire (logiciel win rhizo), symbioses mycorhiziennes (technique de comptage par microscope, dosage de la glomaline par colorimétrie).

Etude du fonctionnement de la rhizosphère (<50cm) par le suivi des grands groupes fonctionnels microbiens :

Les microorganismes représentent de bons indicateurs biologiques pour l'évaluation des changements environnementaux dans le fonctionnement, la structuration du sol, et dans l'équilibre des grands cycles biogéochimiques (C,N,P). Les polluants organiques peuvent provoquer un ralentissement, une disparition de certaines guildes microbiennes et donc de leurs fonctions associées. Dans d'autres cas, les polluants sélectionnent les populations les mieux adaptées qui les utilisent comme source de carbone (4,5).

Il s'agira ici de mesurer l'évolution spatiale et temporelle de la **diversité fonctionnelle des communautés microbiennes** et donc de lier ces communautés aux cycles biogéochimiques. Cette approche fonctionnelle générale de la diversité microbienne permettra de connaître l'état et/ou l'évolution du fonctionnement de la rhizosphère en fonction des contraintes écologiques.

- Quantification de la diversité fonctionnelle des communautés microbiennes de la rhizosphère par le système Biolog. Il est basé sur la capacité des communautés microbiennes d'un sol à utiliser une gamme de 31 substrats divisés en 6 classes différentes (amines, hydrates de carbone, sources de carbones complexes, acides carboxyliques, acides aminés, phosphates de carbone) représentatives de la diversité fonctionnelle liée aux cycles biogéochimiques.
- Evaluation de l'adaptabilité des communautés à la présence de polluants : si nécessaire, le système Biolog pourra être adapté pour cibler la capacité des communautés microbiennes à assimiler des molécules phytosanitaires.

Méthodologie : Le protocole utilisé sera celui développé avec le système Biolog (e.g. Ecoplates, ANplates, FF)

Bilan : l'ensemble des prélèvements et des analyses réalisés sur les exclos est synthétisé dans le tableau suivant:

Parcelles étudiées	Année 1	Année 2
2 exclos NR, en zone non restaurée, avec remontée de la nappe	- 2 saisons (été, automne) - analyses : eau (drains, nappe sur dissous + MES), sol, atmosphère* (gaz+particules), plantes (partie souterraine, feuilles) - traits fonctionnels et physiologiques des végétaux, diversité fonctionnelle microbienne.	- 2 saisons (été, automne) - analyses : idem année 1
2 exclos R, en zone restaurée, avec remontée de la nappe + décapage du sol	- 2 saisons (été, automne) - analyses : eau (drains, nappe sur dissous + MES), sol, atmosphère* (gaz+particules), plantes (partie souterraine, feuilles) - traits fonctionnels et physiologiques des végétaux, diversité fonctionnelle microbienne.	- 2 saisons (été, automne) - analyses : idem année 1
1 exclos T, témoin en zone agricole sans remontée de nappe et sans décapage de sol	- 2 saisons (été, automne) - analyses simplifiées : eau (ruissellement, nappe sur dissous + MES), sol, atmosphère* (gaz+particules), végétal (partie souterraine, feuilles),	- 2 saisons (été, automne) - analyses : idem année 1 * <i>commun</i>