

Devenir et impacts écotoxicologiques des produits phytosanitaires dans les sols

F Martin-Laurent

UMR 1347 Agroécologie, INRA Dijon



1

L'anthropocène: contribution de l'agriculture

Paul Crutzen (Prix Nobel de Chimie, 1995)

‘nouvelle ère géologique, qui aurait débutée à la fin du XVIIIe siècle avec la révolution industrielle, période à partir de laquelle l'influence de l'homme sur le système terrestre serait devenue prédominante’.

THE NEXT GOLDEN STATE: A 16-PAGE SPECIAL REPORT ON AUSTRALIA

The Economist

Obama, Bibi and peace
Huntsman blows his horn
A soft landing for China
The costly war on cancer
How the brain drain reduces poverty

MAY 28TH-JUNE 3RD 2011

Economist.com

Welcome to the Anthropocene



Geology's new age

www.sciencemag.org SCIENCE VOL 341 16 AUGUST 2013



PESTICIDE PLANET



In a world of humanmade chemicals, pesticides are second only to fertilizer in the amount applied and the extent of use. They are effective tools for protecting crops, fighting disease-causing insects, and dealing with nuisance animals such as rodents, fleas, and ticks. But herbicides, insecticides, and their kin can harm the environment and are dangerous to workers if improperly used.

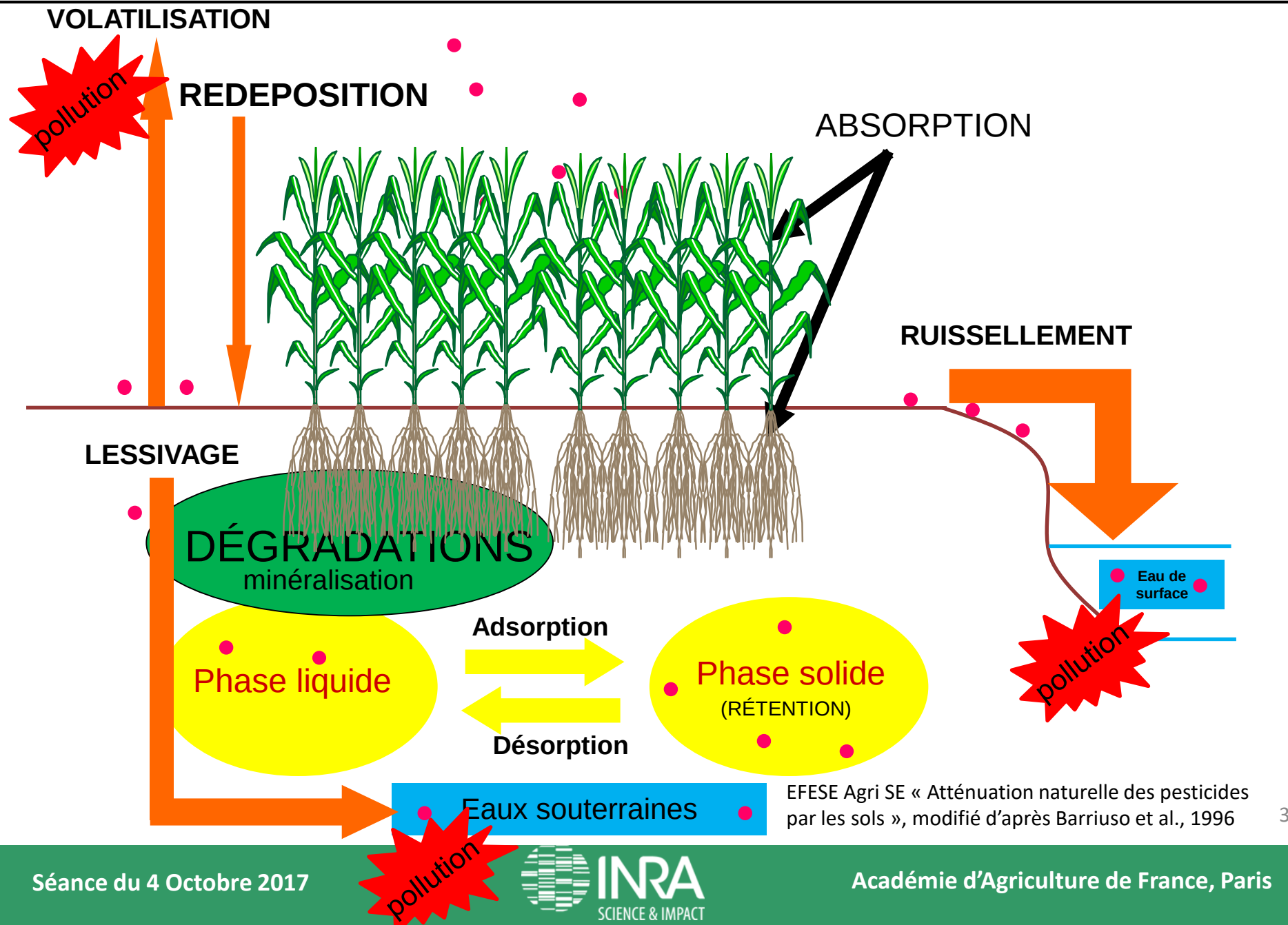


Pesticides applied, kg per ha of arable land, 2005-2009

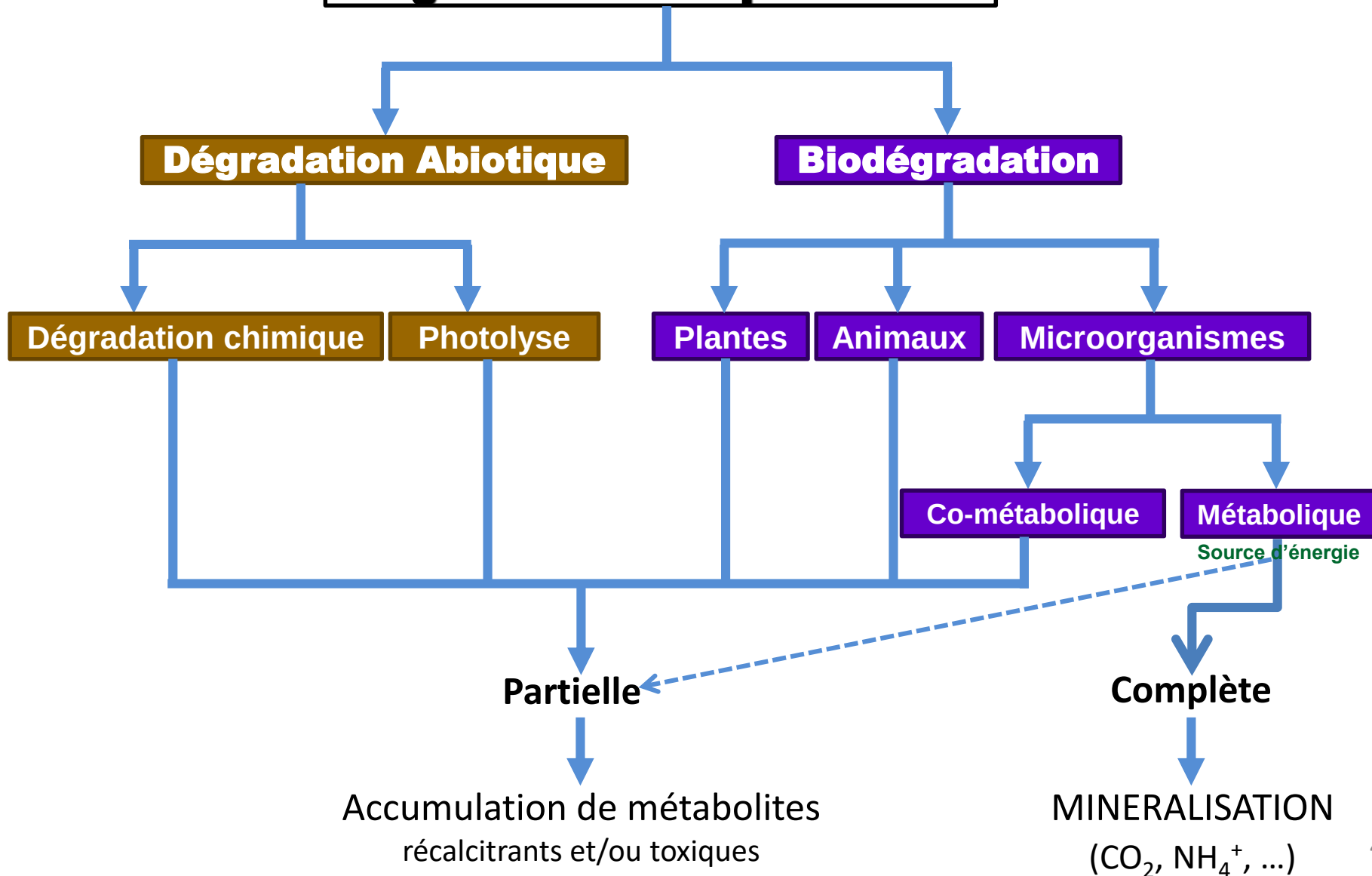
0 - 0.21 0.21 - 1 1 - 2.4 2.4 - 6.5 6.5 - 60

Pesticide use topped 2.4 billion kilograms worldwide in 2007, the last year for which the Environmental Protection Agency produced global figures, and the United States accounted for 20%. Application rates were higher in other countries, such as China, where farmers are less trained and also in valuable crops where pest pressures are high, including Colombian coffee and Dutch tulips.

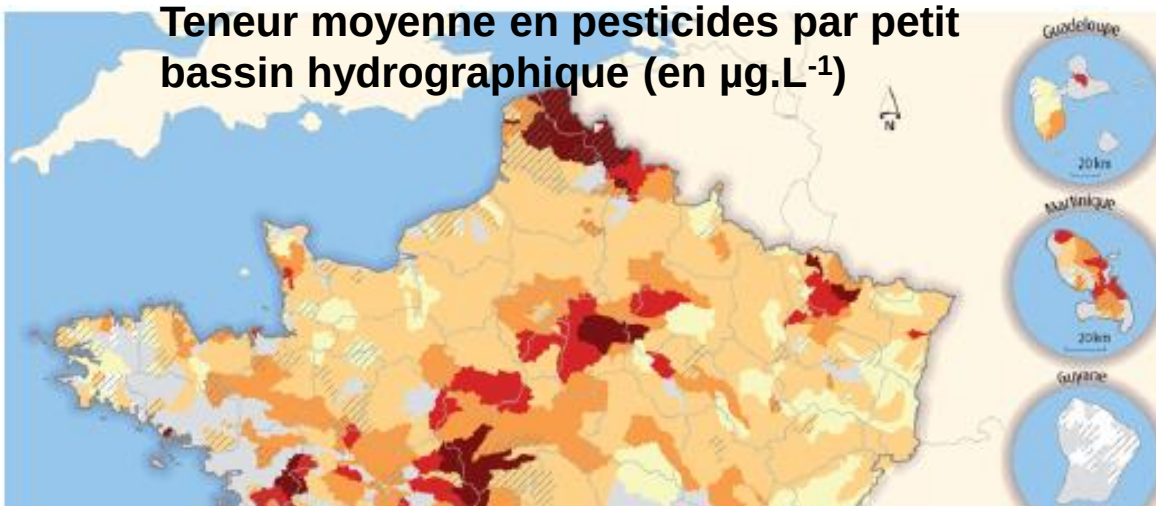
Dynamique des pesticides dans l'environnement (EFESE-écosystèmes agricoles)



Dégradation des pesticides



Teneur moyenne en pesticides par petit bassin hydrographique (en $\mu\text{g.L}^{-1}$)

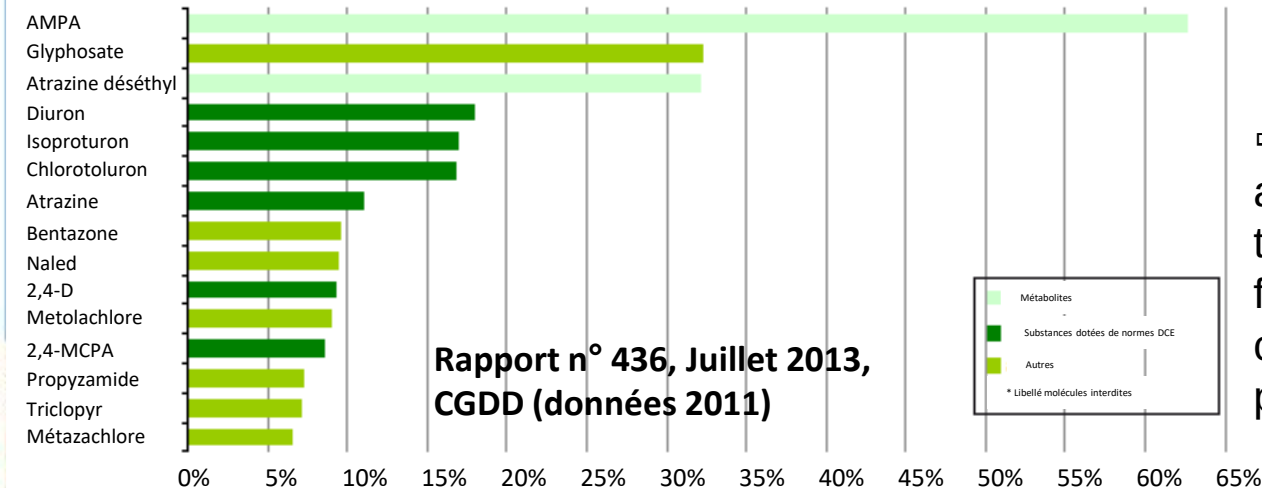


Directive cadre sur l'eau 2000/60/CE

⇒ Contamination quasi-généralisée des cours d'eau en France métropolitaine

⇒ Teneurs en pesticides généralement faibles mais posant des problèmes localement

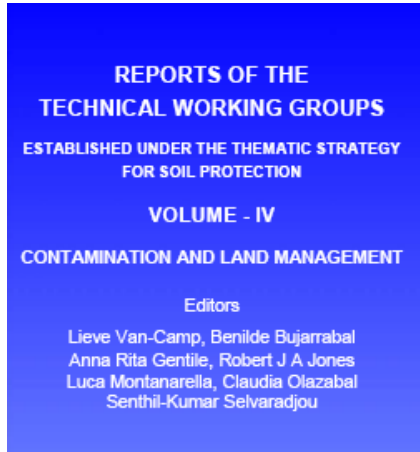
⇒ Des composés (molécules actives, produits de transformation) très fréquemment détectés (dont certains interdits depuis plusieurs années)



Les pesticides les plus quantifiés dans les cours d'eau en France métropolitaine

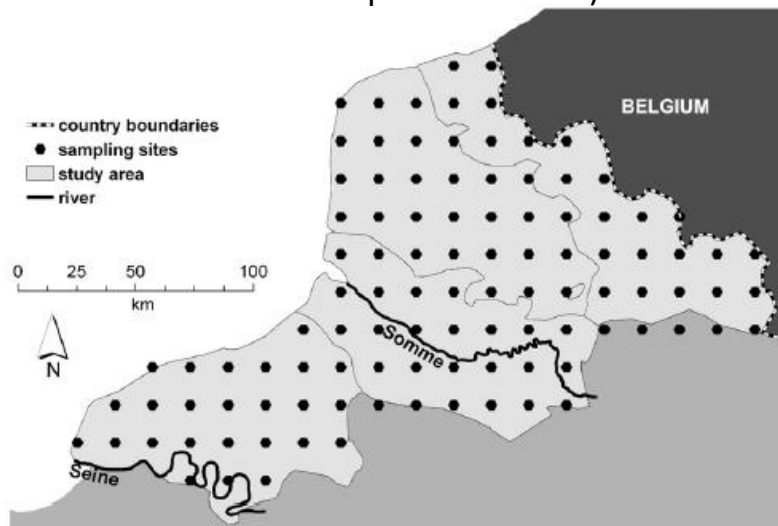


Rapport n° 697, Nov 2015, CGDD (données 2013)

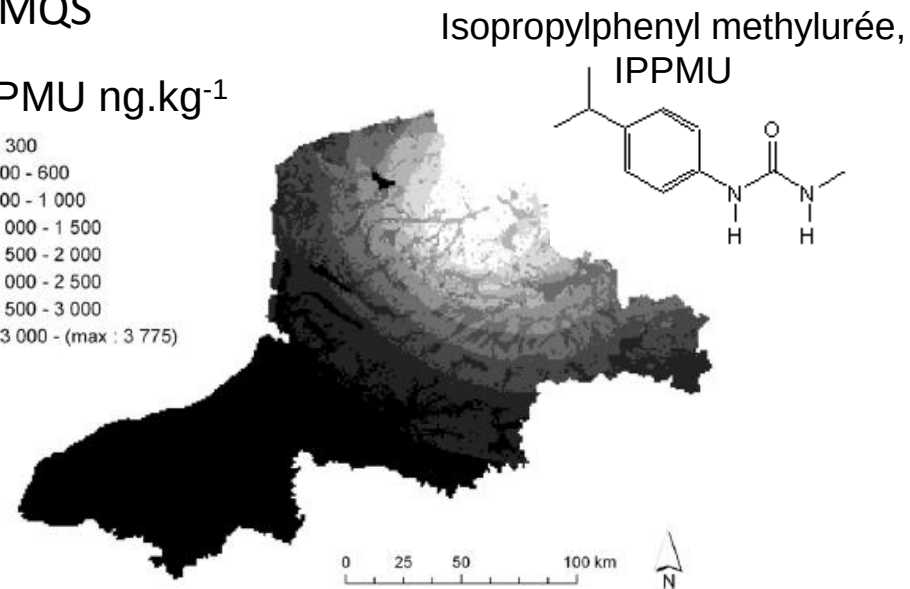
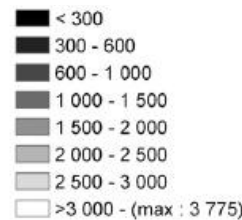


⇒ **Pas d'exigence réglementaire sur l'évaluation *a posteriori*:** en l'absence de directive cadre européenne sur la protection des sols (proposée en première lecture à la Commission Européenne en 2006...)

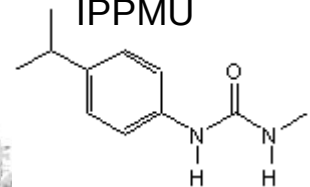
⇒ **De rares études de monitoring:** exemple du RMQS
(réseau de mesure de la qualité des sols)



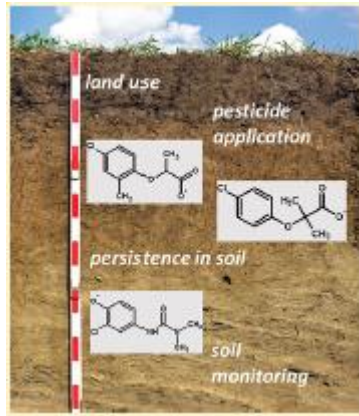
IPPMU ng.kg⁻¹



Isopropylphenyl methylurée,
IPPMU



Villanneau *et al.* (2011) Sci. Tot. Env. 409:3719-3731



DOI: 10.1021/acs.est.7b02529
Environ. Sci. Technol. 2017, 51, 10642–10651

ENVIRONMENTAL
Science & Technology

Article

pubs.acs.org/est

Long-Term Persistence of Pesticides and TPs in Archived Agricultural Soil Samples and Comparison with Pesticide Application

Aurea C. Chiaia-Hernandez,[†] Armin Keller,^{*,‡,§} Daniel Wächter,[‡] Christine Steinlin,[†]
Louise Camenzuli,^{†,‡} Juliane Hollender,^{†,§} and Martin Krauss^{†,||}

⇒ Premières études de recherche *a posteriori* de pesticides dans des archives de sol



BRIDGE – MEDICINES AND PESTICIDES

Toward pesticidovigilance

Can lessons from pharmaceutical monitoring help to improve pesticide regulation?

⇒ Intérêt grandissant pour la mise en place de programme de 'Pesticidovigilance'

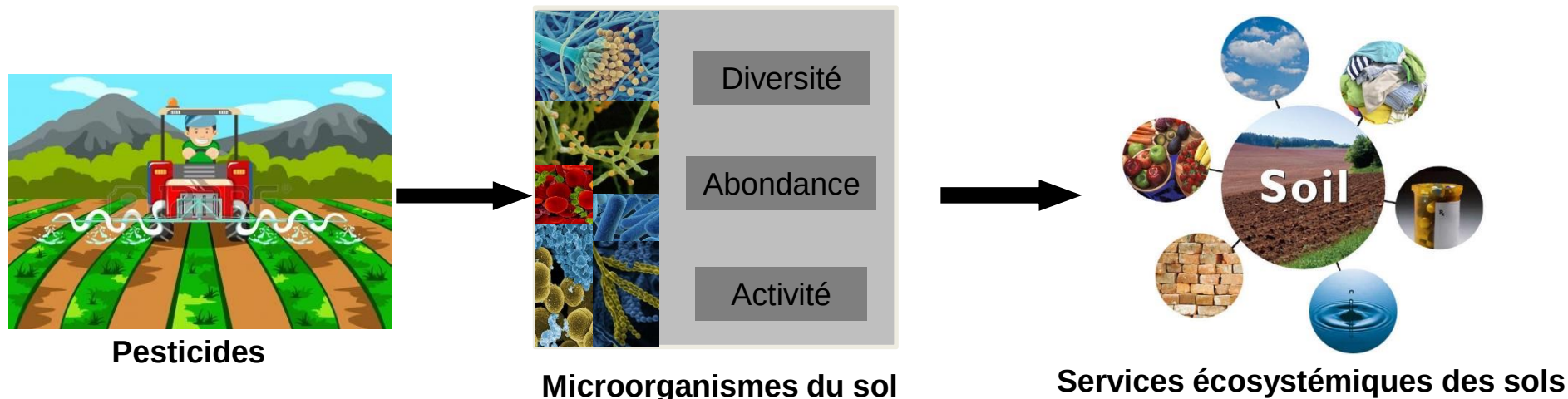
⇒ Evolution du plan Phytopharmacovigilance ? dans sa dimension environnementale...



- Evaluation *a priori* du risque environnemental: règlement n° 1107/2009 du 21/10/09 concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques:

- Impact sur la microflore du sol: minéralisation de l'azote [OCDE 216] et du carbone [OCDE 217]
- (*Biodégradabilité des pesticides: test de stürm modifié [OCDE 301]*)

- Tests globaux ne rendant pas compte de l'impact écotoxicologique des pesticides sur **les fonctions microbiennes** supportant les **services écosystémiques des sols**



Martin-Laurent et al. (2013) Environ. Sci. Poll. Res. 20: 1203-1205

En marche vers une nouvelle directive cadre sur les pesticides pour protéger les sols ?

SCIENTIFIC OPINION

2010

Scientific Opinion on the development of specific protection goal options for environmental risk assessment of pesticides, in particular in relation to the revision of the Guidance Documents on Aquatic and Terrestrial Ecotoxicology (SANCO/3268/2001 and SANCO/10329/2002)¹

EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues (PPR)^{2,3}

European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy

SCIENTIFIC OPINION



APPROVED: 11 November 2015

PUBLISHED: 3 February 2016

doi: 10.2903/j.efsa.2016.4813

2016

Recovery in environmental risk assessments at EFSA

EFSA Scientific Committee

2017

DRAFT SCIENTIFIC OPINION

Scientific Opinion addressing the state of the science on risk assessment of plant protection products for in-soil organisms¹

EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues (PPR)^{2,3}

European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy

▷ EFSA a proposé:

- ‘**services écosystémiques des sols**’ comme objectif spécifique de protection dans l’évaluation du risque des pesticides,
- ‘**microbes**’ comme un des facteurs clés à protéger (à l’échelle du ‘groupe fonctionnel’)

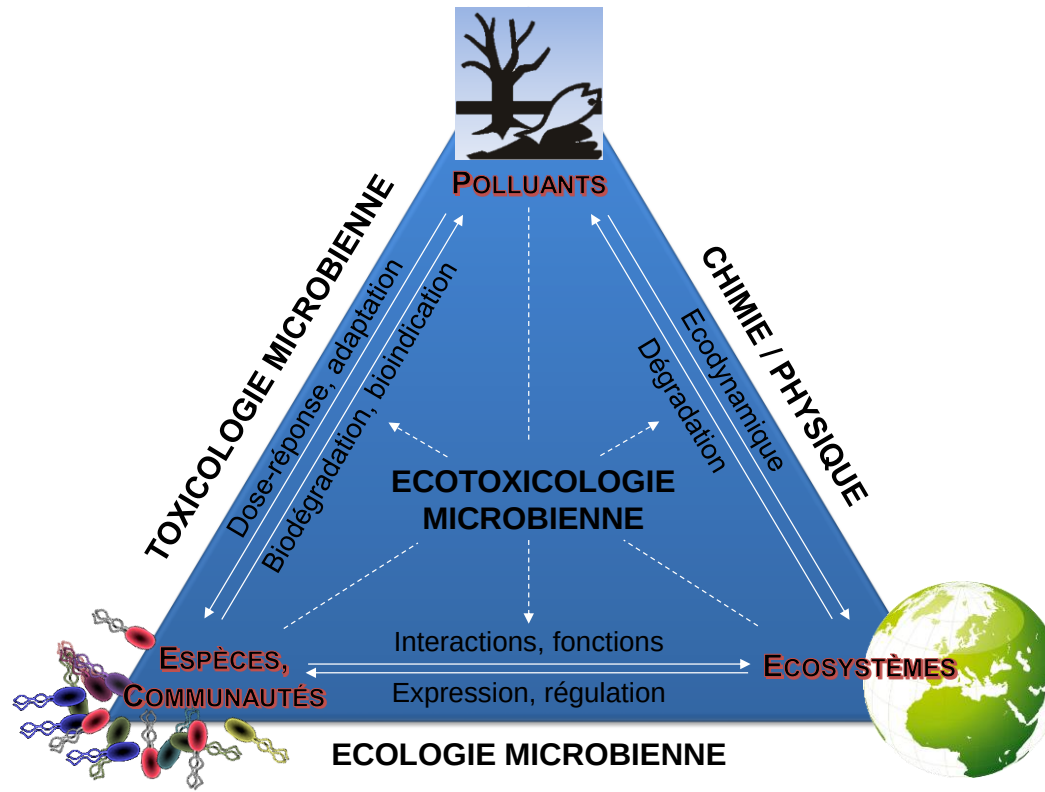
▷ EFSA a proposé:

- concept de ‘**récupération écologique**’ dans l’évaluation du risque des pesticides,
- ‘plage de **fonctionnement normal**’ pour chaque facteur clé à protéger (y compris pour les microorganismes du sol)

▷ EFSA a proposé:

- Une série de méthodes pour évaluer le risque des pesticides sur les organismes vivants dans le sol (**pour les microbes**: cycle de l’azote et champignons endomycorhiziens)

- Quelle(s) fonctions écosystémiques ciblées?
- Pour une (des) **fonction(s) écosystémique(s)** (cycle des nutriments, purification de l'eau) identifier des **organismes clés** (microorganismes du sol) et choisir les **attributs** (proxys) à évaluer (ex: fonction, diversité, abondance et activité de communautés fonctionnelles),
- Besoin de connaissances fondamentales sur les **fonctions microbiennes** ciblées (gènes, enzymes),
- Connaître, définir la **plage de fonctionnement normal (NOR)** d'un attribut mesuré dans un contexte donné (dans un contexte de changement global et de multi-stress),
- Choisir les conditions expérimentales appropriées pour évaluer l'impact d'un pesticide:
 - pesticide par pesticide (molécule active vs produit formulé), mélange de pesticides ?
- Effet direct et/ou indirect sur les attributs (processus impliqués)
- (liste non exhaustive de challenges)



(i) Impacts des polluants sur les micro-organismes et les fonctions microbiennes

(ii) le rôle des microorganismes et des fonctions microbiennes dans la dynamique des polluants

Environ Sci Pollut Res (2016) 23:3981–3983
DOI 10.1007/s11356-015-5763-1



EDITORIAL

Microbial ecotoxicology: an emerging discipline facing contemporary environmental threats

Jean-François Ghiglione¹ · Fabrice Martin-Laurent² · Stéphane Pesce³

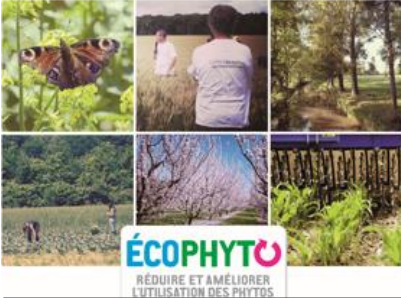
RTP EcotoxicoMic

http://www.ecotoxicomic.fr/fr_FR/

https://fr.wikipedia.org/wiki/%C3%89cotoxicologie_microbienne



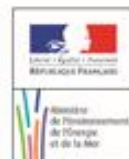
11



Développement d'indicateurs microbiens pour l'évaluation de l'impact des pesticides sur des fonctions écosystémiques terrestres et aquatiques

IMPEC

Fabrice MARTIN-LAURENT, UMR Agroécologie, INRA Dijon



Tester et développer des marqueurs microbiens innovants pour identifier des bioindicateurs pertinents pour évaluer l'impact écotoxicologique des pesticides sur des fonctions microbiennes supportant des services écosystémiques (sol et sédiments):

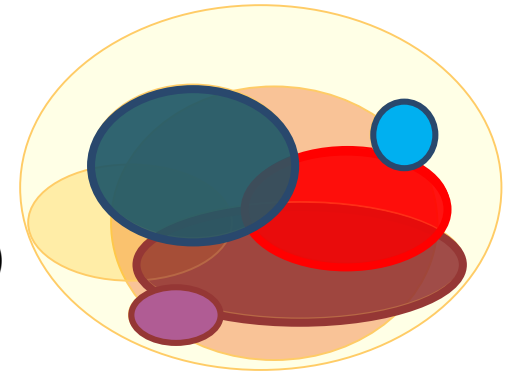
Fonctions microbiennes ciblées :

- **Cycle des nutriments : mesure d'activités enzymatiques du sol (ISO 20130) liées aux cycles du**
 - Carbone (β -glucosidase)*
 - Phosphore (phosphatase)*
 - Azote (urease et nitrifiante [ISO 14238])*

Fonctions ubiquistes, populations microbiennes abondantes et diversifiées

- **Epuration du sol: mesure de la minéralisation de pesticides (ISO 14239)**
 - 2,4-D*
 - atrazine*
 - diuron,..*

*Fonction spécifique, populations microbiennes peu abondantes et peu diversifiées
(représentant moins de 0,01 % du microbiote du sol)*



Abondance et composition de la communauté bactérienne (sol et sédiments):

- Extraction directe de l'ADN d'échantillons environnementaux (ISO 11063)
- Quantification de l'abondance de la communauté bactérienne (abondance) et de 11 groupes microbiens (composition) (ISO 17601)

1- Choix des pesticides et définition des scénarios d'exposition:

-Inventaire des pesticides :- Domaine de Bretenièrre (essai PIC, historique des traitements phytosanitaires)
- ZABR Morcille et bassin versant du Trec (qualité du cours d'eau)

-Classification in silico des pesticides: TyPol pour grouper les pesticides appliqués ou détectés dans les sites expérimentaux

⇒ Choix des pesticides à tester seuls et en mélange

2- Evaluation a priori de l'impact des pesticides sur les microorganismes du sol et des sédiments:

Expérimentations en microcosmes (plusieurs sols/sédiments, 3 pesticides différents (seul ou en mélange))

⇒ Effet sur des marqueurs d'abondance, de composition et d'activités microbiennes

IMPEC: 1- Inventaire et classement *in silico* (TyPol) des pesticides

- 144 composés inventoriés sur les sites expérimentaux
- 7 paramètres environnementaux : Sw , K_{ow} , P_{vap} , KH , K_{oc} , DT_{50} et BCF
- 40 descripteurs moléculaires (nombre et type)

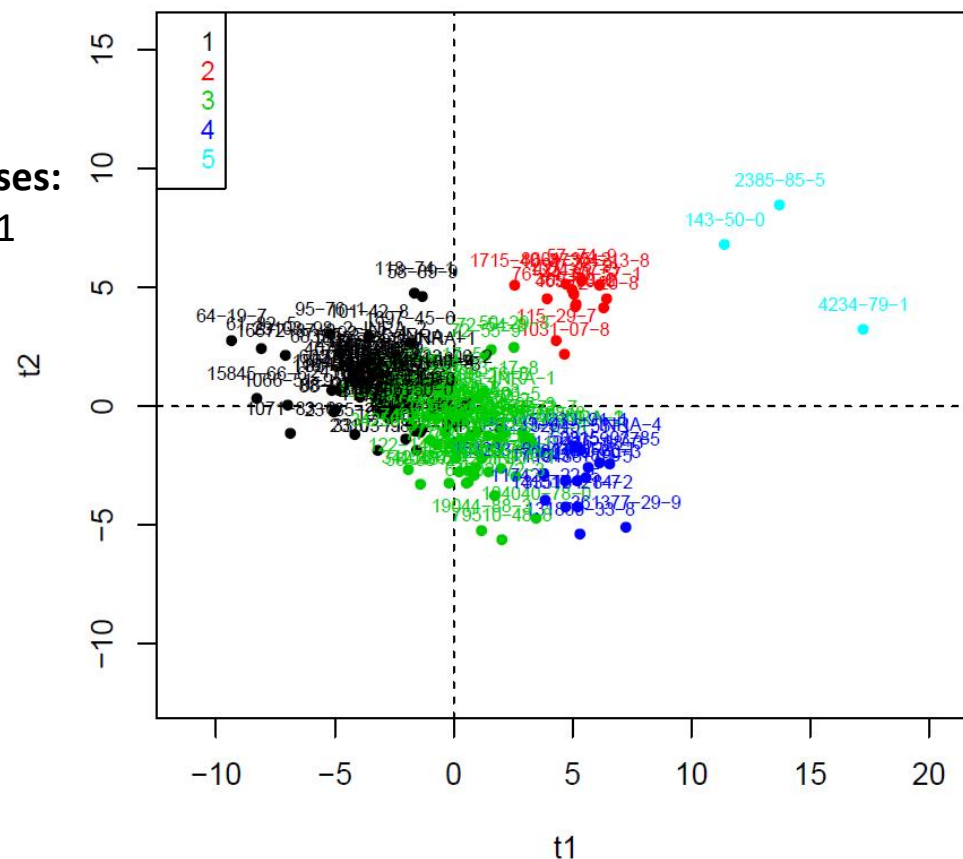
Individuals factor map (PLS Regression)

Classification des pesticides en 5 classes

Choix de trois pesticides appartenant à 2 classes:

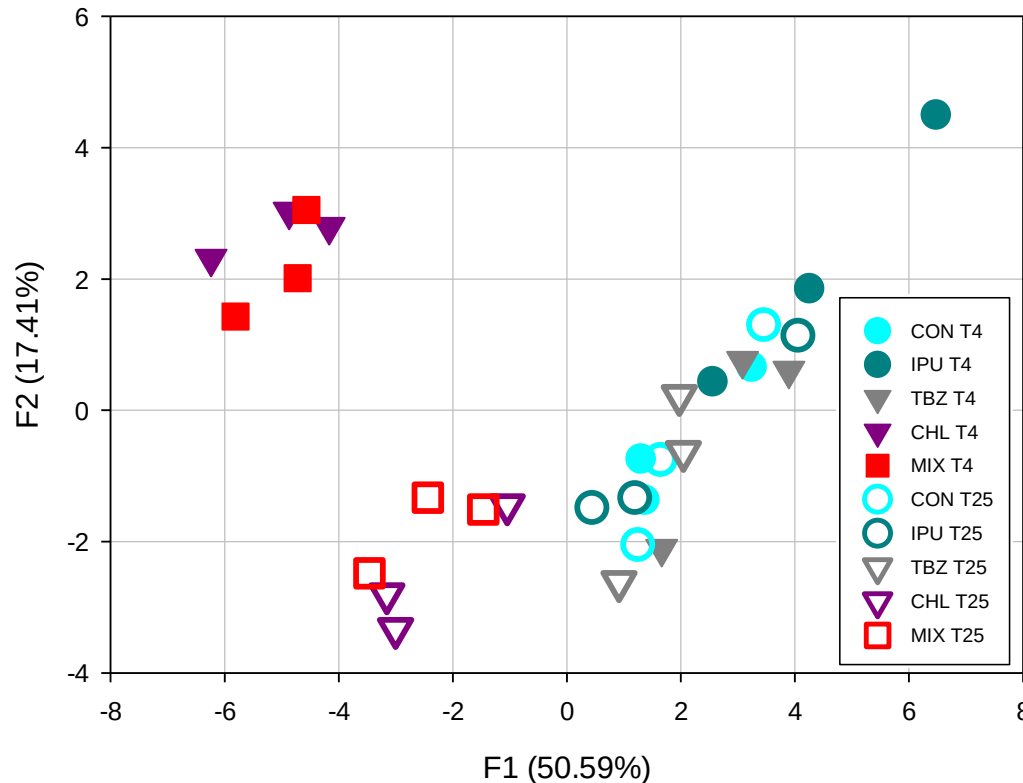
- Chlorpyrifos-methyl (CHL), insecticide, classe 1
- Tebuconazole (TBZ), fongicide, classe 3
- Isoproturon (IPU), herbicide, classe 1

- Appliqués en grandes cultures conduites en conventionnel



15

Microcosmes du sol de 'La Cage'



Expérience en microcosmes (3 sols, 5 traitements [contrôle, IPU, TBZ, CHL, MIX]; 23 paramètres microbiens ; 2 temps T4 et T25; paramètres cinétiques de transformation des pesticides]

⇒ pas d'impact de **TBZ** et **IPU** à T4 et T25

⇒ impact de **CHL** et **MIX** à T4 :

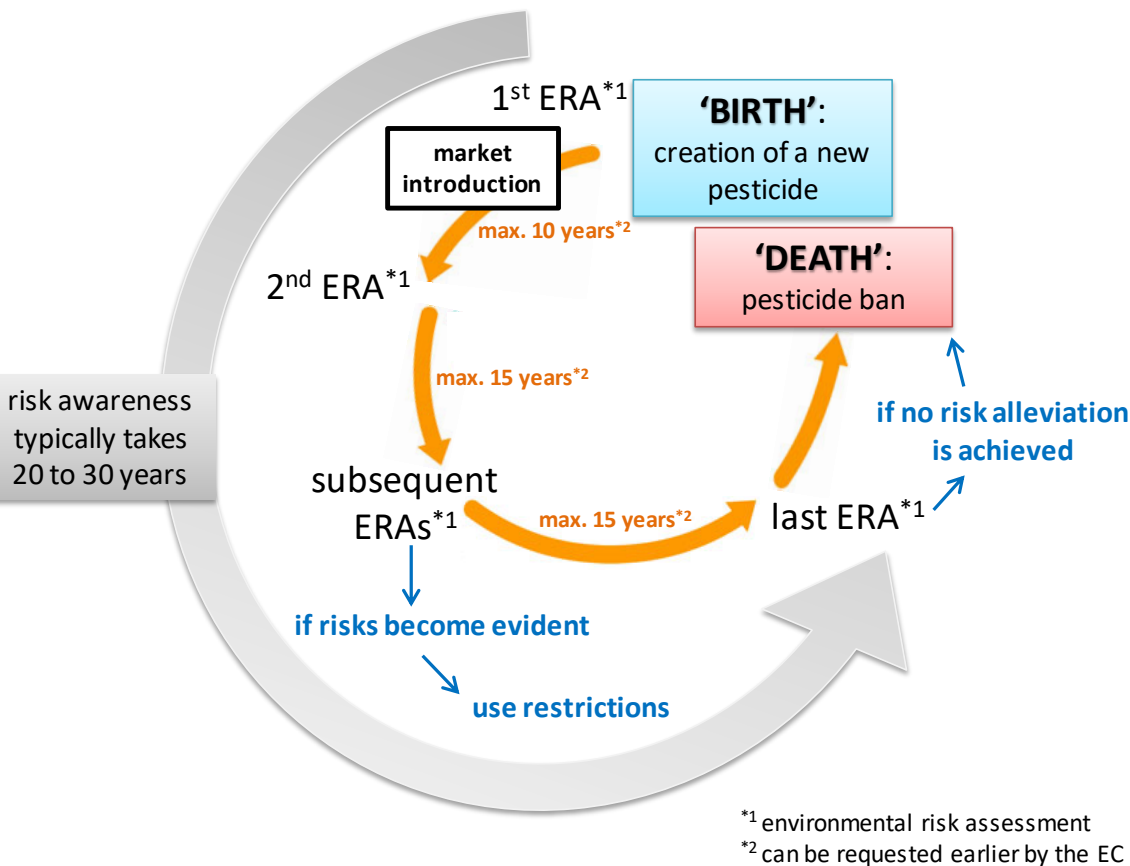
↑ minéralisation acétate de sodium et uréase, abondance β -proteo et

↓ minéralisation 2,4-D, β -glucosidase, arylsulfatase, nitrification, abondance α -proteo et actino

⇒ résilience partielle à T25 (indicateurs non-résilients: β -glucosidase, arylsulfatase, minéralisation 2,4-D, abondance α -proteo et actino).

⇒ **Conclusions:** effet écotoxicologique dépendant du type de pesticides et de sols sur certains paramètres microbiens (résilience partielle de la communauté microbienne)

typical pesticide life cycle



Pistes d'améliorations

a priori
⇒ Révision de la directive cadre européenne de mise sur le marché des produits phytosanitaires (1107/2009/CE)



⇒ Respecter les engagements du Plan Ecophyto en terme de réduction d'usage des produits phytosanitaires

a posteriori
⇒ Phytopharmacovigilance mise en place de programme de monitoring (eau, sol, air)



Towards a better pesticide policy for the European Union

Veronika Storck^a, Dimitrios G. Karpouzas^b, Fabrice Martin-Laurent^{a,*}

^a Agroécologie, AgroSup Dijon, INRA, Univ. Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France

^b University of Thessaly, Department of Biochemistry and Biotechnology, Ploutonos 26 and Aioulou, 41221 Larissa, Greece



ecotoxicoMic

The emerging Network of
Microbial Ecotoxicology

Save the dates

EcotoxicoMic 2017

1st International Conference on Microbial Ecotoxicology

*November 21-24, 2017
Lyon, France*



more information soon on: www.ecotoxicomic.fr

The coming of age of microbial ecotoxicology: report on the first two meetings in France

Jean-François Ghiglione • Fabrice Martin-Laurent •
Sabine Stachowski-Haberkorn • Stéphane Pesce •
Stéphane Vuilleumier

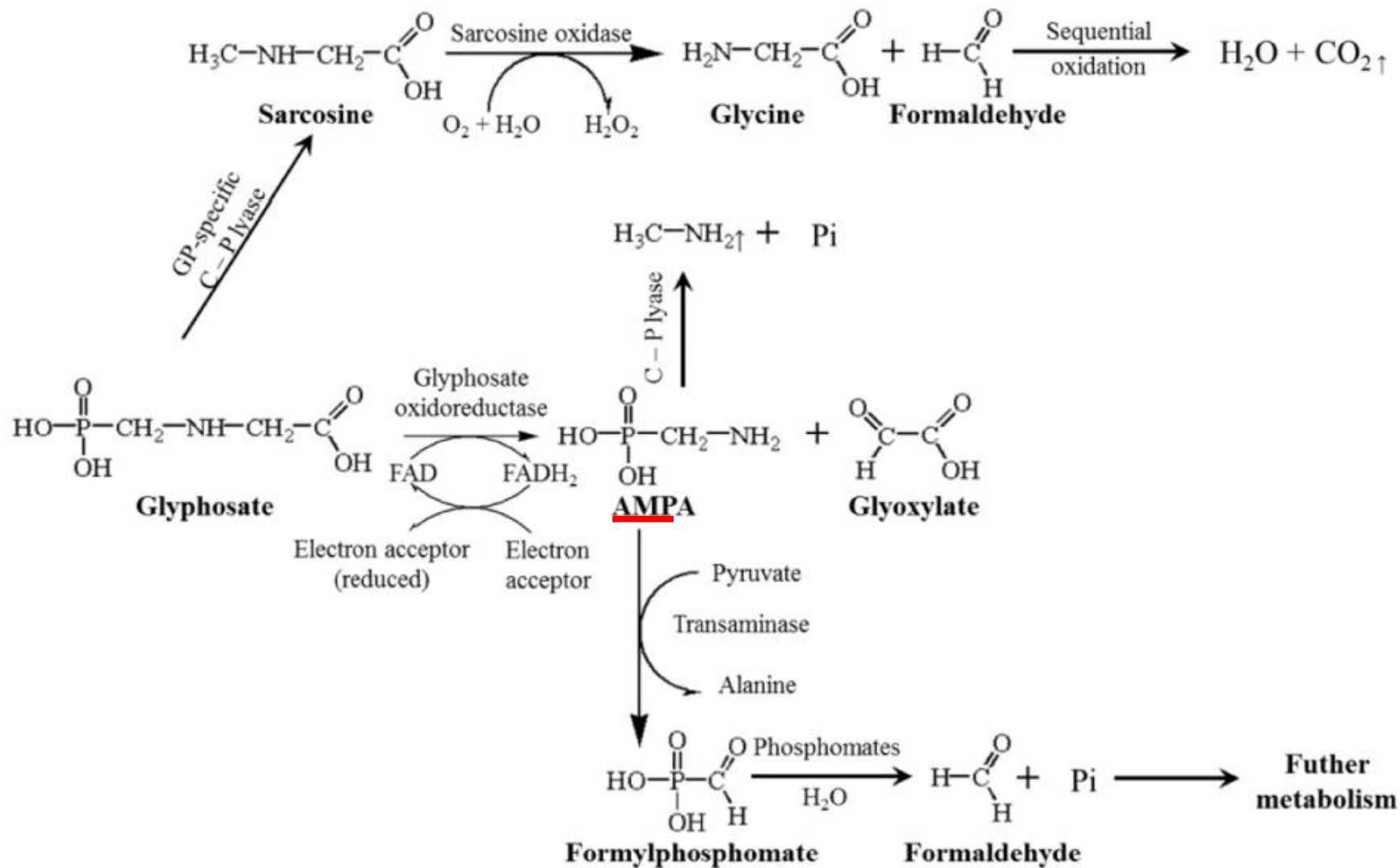


Microbial ecotoxicology: an emerging discipline facing contemporary environmental threats

Jean-François Ghiglione¹ • Fabrice Martin-Laurent² • Stéphane Pesce³



Biodégradation du glyphosate



Voie de dégradation bactérienne du glyphosate
(selon Huang *et al.* 2016 Pesticide Biochemistry and Physiology)

Souches microbiennes dégradant le glyphosate

Microorganism	Source	Primary GP metabolite
<i>Bacteria</i>		
<i>Pseudomonas</i> sp. PG2982	Mixed culture with <i>P. aeruginosa</i> , passage on a selective medium	Sarcosine
<i>Flavobacterium</i> sp. GD1	Activated sludge of waste treatment facilities	AMPA
<i>Arthrobacter atrocyaneus</i> ATCC 13752	Collection of microorganisms and cell cultures, Germany	AMPA
<i>Arthrobacter</i> sp. GLP-1	Mixed culture with <i>Klebsiella pneumoniae</i> , passage on a selective medium	Sarcosine
<i>Pseudomonas</i> sp. LBr	Activated sludge of waste treatment facilities	AMPA (95%), sarcosine (5%)
<i>Achromobacter</i> sp. LW9	Activated sludge of waste treatment facilities	AMPA
<i>Agrobacterium radiobacter</i> SW9	Activated sludge of waste treatment facilities	Sarcosine (putatively)
<i>Alcaligenes</i> sp. GL	Mixed culture with <i>Anacystis nidulans</i> , passage on a selective medium	Sarcosine (95%), AMPA (5%)
<i>Rhizobium meliloti</i> 1021	Spontaneous mutation of a wildtype strain	Sarcosine
<i>Pseudomonas</i> sp. GLC11	Mixed culture with <i>P. aeruginosa</i> PAO1	Sarcosine
<i>Pseudomonas pseudomallei</i> 22	GP-contaminated soil	AMPA (putative)
<i>Ochrobacterum anthropi</i> LBAA	Soil	AMPA
<i>Ochrobacterum anthropi</i> S5	Soil	AMPA
<i>Streptomyces</i> sp. StC	Activated sludge of waste treatment facilities	Sarcosine
<i>Geobacillus caldoxylosilyticus</i> T20	Central heating system	AMPA
<i>Erwinia stewartii</i> G-6	Soil	No Research
<i>Pseudomonas</i> sp. 4ASW	GP-contaminated soil	Sarcosine
<i>Arthrobacter</i> sp. A5	GP-contaminated soil	No Research
<i>Ochrobacterum</i> sp. G-1	GP-contaminated soil	AMPA
<i>Arthrobacter simplex</i> QB-7	GP-contaminated soil	No Research
<i>Morganella</i> sp. BR57	Activated sludge of waste water treating pond of pesticide factory	No Research
<i>Pseudomonas putida</i> BR13	Activated sludge of waste water treating pond of pesticide factory	No Research
<i>Achromobacter</i> sp. MPS 12A	Alkylphosphonate-contaminated soil	Sarcosine
<i>Ochrobacterum anthropi</i> GPK 3	GP-contaminated soil	AMPA
<i>Bacillus cereus</i> CW-1	Soil	No Research
<i>Arthrobacter</i> sp. HX-5	GP-contaminated soil	No Research
<i>Ochrobacterum anthropi</i> GDOS	GP-contaminated soil	AMPA
<i>Enterobacter cloacae</i> K7	Rhizoplane of various plants	Sarcosine
<i>Bacillus subtilis</i> Bs-15	Soil	No Research
<i>Burkholderia vietnamiensis</i> B-1	GP-contaminated soil	No Research
<i>Pseudomonas nitroreducens</i> Y-1	GP-contaminated soil	No Research
<i>Pseudomonas</i> spp.	GP-contaminated soil	AMPA
<i>Fungi</i>		
<i>Penicillium notanum</i>	Spontaneous growth on hydroxyfluorenyl-9-phosphate	AMPA
<i>Aspergillus niger</i>	Soil	AMPA
<i>Scopulariopsis</i> sp.	Soil	AMPA
<i>Trichoderma harzianum</i>	Soil	AMPA
<i>Paecilomyces varioti</i> Bainier T1	GP-contaminated soil	No Research
<i>Penicillium chrysogenum</i>	Soil	AMPA
<i>Aspergillus flavus</i> JLC71321	GP-contaminated soil	No Research
<i>Aspergillus oryzae</i> A-F	Sludge in an aeration tank of a glyphosate manufacture	AMPA

3 gènes codant 3 types d'enzymes de dégradation:

- *glpA* et *glpB* isolés chez *Pseudomonas pseudomallei* capable d'utiliser le glyphosate comme source de phosphore (Penaloza-Vazquez et al., 1995)
- *gox* isolé d'*Ochrobactrum antropi* G1 capable de transformer le glyphosate en AMPA et glyoxylate (Kishore et Barry, 1995)
- *gat* isolé de *Bacillus licheniformis* capable d'acétyler le glyphosate pour former le N-acetylglyphosate (Castle et al., 2004)

