

Transfert et distribution des pesticides dans les biofilms en lien avec les effets toxiques associés

En 2000, la Directive Cadre sur l'Eau a exigé le retour au bon état chimique et écologique des cours d'eau. Elle a notamment classé 45 substances comme étant prioritaires pour cette évaluation (directive 2013/39/UE), dont en grande partie des pesticides. En effet, en raison de leur utilisation massive, on retrouve aujourd'hui ces contaminants dans tous les compartiments de l'environnement. Par ailleurs, au vu de sa capacité à intégrer les contaminations, le biofilm est considéré comme un excellent bioindicateur pour l'évaluation de la qualité de l'eau (Edwards & Kjellerup, 2013). Celui-ci est à la base de la chaîne trophique dans les milieux aquatiques (Mora-Gómez et al., 2016) et se compose de microorganismes (microalgues, bactéries, champignons, etc...) enchâssés dans une matrice de substances polymériques extracellulaires (EPS) (Bonnineau et al., accepté).

Mes recherches de doctorat ont porté sur l'étude des mécanismes de transfert et de distribution des pesticides dans les biofilms en lien avec les effets toxiques associés. Ces travaux ont été réalisés avec une approche toxicocinétique par laquelle la bioaccumulation du diuron (un herbicide inhibiteur de la photosynthèse) a été suivie dans les différents compartiments du biofilm mature (Figure 1). Ce suivi a été réalisé sous plusieurs conditions abiotiques (vitesses de courant, températures et photopériodes) pour différentes durées d'exposition. En parallèle, des descripteurs fonctionnels et structuraux ont été mesurés comme des activités photosynthétique (pour les communautés autotrophes) et enzymatiques (pour les communautés hétérotrophes), ainsi que la biomasse totale, la production de protéines et de polysaccharides.



Figure 1: Photographie de l'étang de Gazinet-Cestas à gauche, d'une cagette après un mois de colonisation dans l'étang au milieu, et d'une lame recouverte de biofilm à droite

Impact des facteurs abiotiques environnementaux sur la bioaccumulation, la distribution et les effets toxiques des pesticides sur les biofilms

Dans le but de répondre aux différentes problématiques posées par ce sujet, quatre expérimentations ont été réalisées. Dans un premier temps, les effets des paramètres abiotiques environnementaux tels que la vitesse du courant, la température ainsi que la photopériode ont été évalués. En effet, ces facteurs environnementaux sont amenés à varier par exemple selon la section du cours d'eau, de la saison, ou à plus long terme de par le changement climatique.

La première de ces études a été réalisée dans le but de définir la cinétique d'accumulation du diuron dans les différentes fractions du biofilm (couche limite eau-biofilm, EPS et microorganismes) et les effets toxiques relatifs par des approches toxicocinétiques et toxiodynamiques. Le biofilm a donc été

exposé à différents courants (quasi-statique représentant un système lotique tel qu'un lac et $2 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ correspondant au débit d'un petit cours d'eau) pendant diverses durées afin de caractériser au mieux la phase d'accumulation.

Les résultats de cette expérimentation ont mis en avant d'une part la distribution et la vitesse d'accumulation du diuron dans le biofilm (Chaumet et al., 2019a). En effet, il a pu être déterminé que le diuron été accumulé rapidement par les microorganismes (équilibre atteint dans la première heure d'exposition). D'autre part, il a pu être observé que l'augmentation de la vitesse du courant pouvait engendrer une modification de la structure du biofilm induisant une diminution de l'épaisseur de la couche limite eau-biofilm, et par conséquent, une augmentation de la vitesse du transfert des pesticides vers les microorganismes. Cependant, bien qu'un biofilm exposé à un courant plus élevé (pendant les périodes de crues par exemple), serait impacté plus rapidement par les pesticides, il ne le serait pas nécessairement plus une fois l'équilibre atteint.

Je me suis ensuite intéressée à l'impact de la modulation de la température et de la luminosité sur la sorption et les impacts du diuron sur le biofilm. Pour cela, ce dernier a été exposé à douze combinaisons de température, photopériode et concentration en diuron différentes, représentant divers *scenarii* (été, hiver, concentration environnementale et pic de pollution). Il a pu être montré les effets combinés de la variation de température et de photopériode sur la bioaccumulation et les effets toxiques des pesticides sur le biofilm (Chaumet et al., accepté). En effet, les analyses ont révélé une plus grande sensibilité du biofilm face au diuron en conditions hivernales (10°C , cycle jour/nuit 10/14) qu'en conditions estivales (26°C , cycle jour/nuit 16/8).

Caractérisation des mécanismes de sorption du diuron dans le biofilm et réponse biologique

J'ai ensuite étudié les différents mécanismes mis en place lors de la sorption des pesticides dans le biofilm. En parallèle, cette partie s'est également intéressée à caractériser le temps de réponse biologique liée à la bioaccumulation. Le biofilm a donc été exposé à huit concentrations croissantes de diuron pendant deux heures, soit après l'atteinte de l'équilibre pour déterminer les isothermes de sorption. La bioaccumulation a été analysé ainsi que l'inhibition de la photosynthèse, comme proxy de l'effet toxique. Les données ont montré que la bioaccumulation du diuron dans le biofilm n'était pas linéaire (Chaumet et al., 2019b). En effet, le modèle de Langmuir (prenant en compte la possibilité de plusieurs sites de sorption) a pu être utilisé pour modéliser les mécanismes d'adsorption dans les EPS, et d'absorption par les microorganismes. De même, les données de l'inhibition de la photosynthèse le long du gradient de concentration ont révélé un impact continu, indiquant une absorption par les cellules de façon ininterrompue. Ces données ont également pu être modélisées selon le modèle prédictif E_{max} , c'est-à-dire en tenant compte du fait de la potentielle relation non linéaire entre la dose (concentration en contaminant dans l'eau) et l'effet (EC_{50}). Afin de tester la validité de ces modèles et de confirmer la non linéarité relevée dans les mécanismes de sorption du diuron dans le biofilm, les données prédites issues du modèle de Langmuir à partir de la concentration en diuron dans l'eau ont été réinjectées dans le modèle E_{max} . Ces nouvelles valeurs de l'effet toxique ainsi prédit ont confirmées le bon ajustement de ces deux modèles prédictifs aux données expérimentales. Cette expérimentation a également permis d'établir un modèle prédictif pouvant déterminer à terme la concentration en diuron dans l'eau et son effet toxique associé à partir de la concentration en diuron dans le biofilm. L'établissement de ces modèles sera utile lors d'étude de la contamination des microorganismes aquatiques par les pesticides lors d'étude de terrain.

La dernière expérimentation réalisée a porté sur l'étude de l'amplitude et du temps de réponse du biofilm face à une contamination aux pesticides. Celle-ci a été réalisée dans le but d'établir le temps nécessaire au diuron pour atteindre sa cible biologique. Pour répondre à cette problématique, du biofilm a été exposé à trois concentrations croissantes de diuron pendant trois heures, puis le biofilm

a subi un pic de contamination de forte intensité, à la suite de quoi l'inhibition de la photosynthèse a régulièrement été mesurée. Les résultats ont indiqué quelle que soit la concentration d'exposition, une réponse très rapide : 30 secondes pour une exposition à $100 \mu\text{g.L}^{-1}$, et 7 minutes pour une concentration de $5 \mu\text{g.L}^{-1}$, de ce fait, il a été possible d'établir que le temps de réponse était dose-dépendant (Morin et al., 2018). Ceci indique également que l'accumulation intracellulaire du diuron se fait de façon quasi-instantanée.

Validation des différents modèles précédemment établis

La dernière partie de ma thèse a eu pour objectif d'obtenir une vue d'ensemble et critique sur la totalité de ces travaux précédemment réalisés. Pour ce faire, les modèles de Langmuir et E_{max} établis dans la partie précédente ont été appliqués sur l'ensemble des données obtenues au cours de ces trois années afin de valider et identifier les limites de ces modèles prédictifs. Il s'est avéré que ce second modèle correspondait en tous points au précédent (allure de la courbe, constantes), à l'exception d'une légère diminution du coefficient de régression, passant de 0,96 à 0,71 dénotant d'une faible diminution de sensibilité, mais d'un gain considérable en robustesse. En effet, le premier modèle a été établi à partir d'une base de données de 28 échantillons alors que le second se constitue d'un jeu de données de 228 échantillons. Par ailleurs, certaines limites ont pu être établies, notamment le facteur temps d'exposition, représente un biais au niveau de l'utilisation de ce modèle avant l'atteinte de l'équilibre. Cependant, ce point ne représente qu'une contrainte mineure pour un usage pour des études de terrain par exemple, où l'exposition est généralement supérieure à une heure, soit après l'atteinte de l'équilibre. Cette dernière partie a donc prouvé la robustesse des données obtenues et des différents modèles établis. Afin de parfaire ces modèles de prédiction pour l'évaluation des risques toxiques de la contamination anthropique, il serait nécessaire par la suite de considérer davantage de facteurs, comme par exemple les effets mélanges des contaminants, le temps de désorption ou encore l'impact de la présence de matière organique. Ces études complémentaires permettraient un usage de ces modèles sur le terrain, ce qui permettrait une meilleure évaluation de la qualité des cours d'eau.

Conclusions

L'ensemble des expérimentations menées au cours de cette recherche de doctorat a permis de décrire les mécanismes de sorption du diuron dans les biofilms, à savoir des processus d'absorption par les cellules et d'adsorption par la matrice EPS. Puis l'influence des différents paramètres environnementaux étudiés a pu être mise en avant. Ces travaux démontrent la pertinence de l'approche toxicocinétique-toxicodynamique pour l'étude de l'impact des pesticides sur les biofilms fluviaux.

Contacts

Betty Chaumet

UR Ecosystèmes aquatiques et changements globaux (EABX), 50
avenue de Verdun - 33612 Cestas Cedex



Pour en savoir plus

<https://cote.labex.u-bordeaux.fr/Communaute/Portraits/Betty-Chaumet-Doctorante-a-Irstea-i6429.html>

Bibliographie citée

Bonnineau, C., Artigas, J., Chaumet, B., Dabrin, A., Faburé, J., Ferrari, B., Lebrun, J., Margoum, C., Mazzella, N., Miège, C., Morin, S., Uher, E., Babut, M. & Pesce, S. Role of biofilms in contaminant bioaccumulation and trophic transfer in aquatic ecosystems: current state of knowledge and future challenges. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, Accepted with major revision

<http://doi.org/10.3389/fenvs.2018.00131>

Chaumet, B., Morin, S., Hourtané, O., Artigas, J., Delest, B., Eon, M., & Mazzella, N. (2019a). Flow conditions in fluence diuron toxicokinetics and toxicodynamics in freshwater biofilms. *Science of the Total Environment*, 652, 1242–1251. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.265>

Chaumet, B., Morin, S., Boutry, S., & Mazzella, N. (2019b). Diuron sorption isotherms in freshwater biofilms. *Science of the Total Environment*, 651, 1219–1225. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.286>

Chaumet, B., Mazzella, N., Neury-Ormanni, J., & Morin, S. Light and temperature influence on diuron bioaccumulation and toxicity in biofilms. *Ecotoxicology*, Accepted with major revision

Edwards, S. J., & Kjellerup, B. V. (2013). Applications of biofilms in bioremediation and biotransformation of persistent organic pollutants, pharmaceuticals / personal care products, and heavy metals, 9909–9921. <http://doi.org/10.1007/s00253-013-5216-z>

Mora-Gómez, J., Freixa, A., Perujo, N., & Barral-Fraga, L. (2016). Limits of the Biofilm Concept and Types of Aquatic Biofilms. In H. G. and M. D. B. Anna M. Romani (Ed.), *Aquatic Biofilms* (pp. 3–28). Caister Academic Press. <http://doi.org/https://doi.org/10.21775/9781910190173.01>

Morin, S., Chaumet, B., & Mazzella, N. (2018). A Time-Dose Response Model to Assess Diuron-Induced Photosynthesis Inhibition in Freshwater Biofilms, 6(November), 1–9.