

## Accord Cadre ZABR- Agence de l'Eau Fiche projet (version septembre 2016)

Titre du projet : Etude structurelle et fonctionnelle des communautés naturelles microbiennes et d'invertébrés du sédiment pour évaluer la qualité écologique de milieux lotiques soumis à une contamination chimique (CommuSED)

Personnes responsables Stéphane PESCE (Irstea, UR MALY, Lyon-Villeurbanne)

Equipes de recherche « ZABR » concernées : liste des compétences utiles au projet (les partenaires suivants ont donné leur accord pour participer à ce projet)

UR MALY Irstea :

- équipes EMHA : S. Pesce, C. Bonnineau (analyses microbiennes fonctionnelles : mesures d'activités)
- LAMA : A. Dabrin, C. Margoum (caractérisation des niveaux de contamination : métaux, pesticides)
- POLDIF: V. Gouy (expertise concernant le site Ardières Morcille : pratiques agricoles et transferts des contaminants)

UMR CARTEL INRA USMB : E. Lyautey (analyses microbiennes structurelles et fonctionnelles : approches moléculaires)

LCME USMB : E. Naffrechoux (caractérisation des niveaux de contamination : HAPs, PCBs ; expertise concernant le site Tillet/Bourget)

Autres partenaires : (*préciser leur degré d'implication et leur accord*)

Recherche :

CentreEcotox EPFL (Lausanne, Suisse) : B. Ferrari -> Accord acquis (études des communautés d'invertébrés : analyses structurelles et fonctionnelles ; expertise en écotoxicologie du sédiment) – Implication sur fonds propres

Institutionnel : CISALB (accord de principe), SMRB (accord de principe) : expertise et relais locaux sur les sites d'études

Thème de rattachement ZABR :

Flux polluants, écotoxicologie, écosystème

Thème de rattachement Agence de l'Eau :

Q12 Quelle méthode pour établir un diagnostic sur les cas de pollution toxique ?

- caractériser la contamination en cours d'eau, littoral, nappes et lagunes par des méthodes optimisées
- caractériser l'effet des pressions et des rejets de substances
- préciser l'influence des pollutions historiques à la contamination de l'eau et des poissons et les risques associés à leur remobilisation

Site ou Observatoire de rattachement ZABR:

SOERE OLA : rivière Tillet (affluent du lac du Bourget)

SAAM : site atelier Ardières-Morcille

### Contexte général du projet proposé :

Les sédiments représentent une composante essentielle des écosystèmes aquatiques où ils jouent un rôle important pour de nombreuses espèces en tant qu'habitat ou site de ponte, représentant ainsi un milieu non négligeable de diversité biologique. Réceptacle d'apports d'origine autochtone et allochtone, ce compartiment assure également un rôle fonctionnel majeur pour la régulation des écosystèmes aquatiques. Parmi les communautés benthiques des sédiments, les micro-organismes sont indispensables au bon fonctionnement des cycles biogéochimiques, les transformations qui les assurent étant pour l'essentiel sous contrôle des communautés microbiennes. Ils sont ainsi impliqués dans plusieurs rôles et fonctions clés, dont le recyclage de la matière organique d'origine autochtone (accumulation de déchets issus de la production de la colonne d'eau) ou allochtone (apports directs ou indirects des affluents ou du bassin-versant), la transformation de polluants, et la production de biomasse qui pourra alimenter le réseau trophique benthique. Ainsi, les zones benthiques peuvent être à l'origine de la redistribution des éléments à la colonne d'eau ou et de l'alimentation des réseaux trophiques. **Pour les écosystèmes lotiques, l'importance fonctionnelle des zones benthiques est clairement démontrée (Battin et al. 2001), les activités étant majoritairement imputées aux communautés microbiennes associées aux sédiments.**

Cependant, les sédiments sont également des récepteurs naturels pour certains contaminants qui s'y accumulent avec le temps. Les éléments traces métalliques, les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), les polychlorobiphényles (PCB), qui ne se retrouvent qu'en concentrations traces dans l'eau, constituent des exemples de substances hydrophobes, toxiques et persistantes, qui s'accumulent dans les sédiments. Or, force est de constater que **les connaissances concernant l'impact de ces substances sur les communautés présentes dans ce compartiment (et notamment les communautés microbiennes) restent à ce jour très fragmentaires.**

De même, au niveau réglementaire, la prise en compte du compartiment sédimentaire dans l'évaluation de la qualité des milieux aquatiques est encore très limitée. L'amendement de la DCE du 16 décembre 2008 (2008/105/EC) et le guide concernant le monitoring des substances chimiques dans le sédiment (European Commission, 2010) définissent le besoin de « contrôler les sédiments à une fréquence raisonnable afin de fournir des données suffisantes à une analyse de tendance fiable à long terme des substances prioritaires qui tendent à s'accumuler dans ceux-ci ». Cependant, si la DCE vise à mieux prendre en compte la contamination des sédiments, il manque encore pour ce compartiment des recommandations sur les méthodes d'évaluation de son impact écotoxicologique et du risque environnemental qui lui sont associés (de Deckere et al. 2011 ; Centre Ecotox 2012). **Dans ce contexte, il apparaît clairement que les besoins de recherche sont nombreux, notamment pour améliorer les procédures d'évaluation des impacts sur les communautés exposées et de leurs conséquences pour le fonctionnement des écosystèmes.**

Dans cette optique, l'ONEMA a choisi de soutenir une action portée par les partenaires 1 (UR MALY) et 2 (UMR CARRTEL) afin de développer, valider et appliquer des approches PICT (Pollution Induced Community Tolerance) pour évaluer l'impact écotoxicologique des contaminants sur les communautés microbiennes des sédiments (action Irstea-ONEMA n°46, 2017-2018). Cependant, ce type d'approche, qui permet de mettre en évidence un impact de la contamination sur les communautés microbiennes exposées chroniquement aux toxiques (via la détection d'une acquisition de tolérance à partir de tests de toxicité aiguë réalisés au laboratoire) ne renseigne aucunement sur les conséquences fonctionnelles de cet impact, ni à l'échelle des communautés, ni à celle de l'écosystème. De plus, elle ne concerne pas les communautés d'invertébrés, qui ne sont pas prises en compte dans la fiche action ONEMA.

**Le projet CommuSED vise donc à combler ces déficits en développant ces questions de recherche au niveau de deux sites d'études qui sont porteurs d'enjeux importants à l'échelle régionale dans le domaine de la contamination chimique.** Le couplage des suivis chimiques à l'étude structurelle et fonctionnelle des communautés biologiques considérées (microorganismes et invertébrés) ambitionne donc de mieux comprendre le fonctionnement écologique des milieux étudiés et d'appréhender le lien entre les niveaux d'exposition mesurés et leurs conséquences fonctionnelles sur les communautés. Il visera ainsi à évaluer l'impact des contaminants sur les capacités des communautés à contribuer aux cycles biogéochimiques *via* différents processus tels que la décomposition de matière organique, la respiration, la nitrification/dénitrification, la méthanogénèse/méthanotrophie et diverses activités enzymatiques impliqués dans les cycles du carbone, de l'azote et du phosphore. Ces mesures d'activités seront couplées à une étude de la diversité structurelle et fonctionnelle des communautés, réalisée à partir d'approches de biologie moléculaire afin d'appréhender le lien diversité-fonction dans les milieux étudiés.

### ***Spécificités du projet CommuSED et complémentarité avec le projet ONEMA :***

L'ensemble des analyses structurelles et fonctionnelles prévues dans le projet CommuSED ne sont pas programmées dans l'action financée par l'ONEMA. En effet, cette dernière cible uniquement le développement des approches PICT (avec une "entrée outil" et non "communautés et fonctionnement de l'écosystème") et leur application sur plusieurs sites d'études (à définir ultérieurement en collaboration avec l'ONEMA) à une échelle géographique assez large afin de tester leur caractère opérationnel. Dans ce contexte, il n'était pas envisageable de prévoir en complément l'étude de la diversité structurelle et fonctionnelle des communautés sur la base de l'ensemble de paramètres proposés dans CommuSED car cela aurait nécessité un effort analytique et humain trop important pour être déployé à large échelle. Les objectifs et les développements méthodologiques sous-jacents à l'approche de la diversité fonctionnelle et biologique des communautés du sédiment telle que proposée dans le projet CommuSED se justifient donc pleinement dans un ancrage régional, mais sont encore difficilement envisageable à l'échelle nationale. Ils permettront de comprendre le fonctionnement des écosystèmes étudiés et d'identifier et sélectionner les descripteurs de perturbation des communautés les plus pertinents en fonction des types de pression chimique afin de tester par la suite leur potentiel opérationnel à une échelle géographique plus large. Cependant, en cas de financement du projet CommuSED et afin de favoriser la complémentarité des projets, il sera proposé à l'ONEMA de prendre en considération l'Ardières et le Tillet parmi les différents cours d'eau qui seront étudiés dans les suivis qu'ils soutiendront. Cela permettra ainsi de mettre en relation les résultats obtenus avec les différentes approches proposées (pour faire notamment le lien entre l'évolution des niveaux de tolérance mesurés dans les approches PICT et l'évolution de la structure génétique des communautés).

### Finalités et attendus opérationnels :

Le projet CommuSED vise à :

- mettre en œuvre des approches permettant d'étudier le rôle fonctionnel des communautés microbiennes et des communautés d'invertébrés du sédiment, au niveau de deux sites régionaux particulièrement impactés par des contaminations agricoles et industrielles
- mieux appréhender la distribution des contaminants (i.e. fraction dissoute vs compartiment sédimentaire) sur ces sites
- établir la relation entre i) les niveaux de contamination mesurés dans les sédiments et ii) la structure et la fonctionnalité des communautés microbiennes et des communautés d'invertébrés naturellement présentes dans ce compartiment
- contribuer à l'évaluation du risque écotoxicologique (en particulier d'un point de vue fonctionnel) associé à la contamination des sédiments

Le projet a donc pour finalité première:

- de contribuer à une meilleure compréhension du rôle écologique des communautés du sédiment en se basant sur des fonctionnements propres à deux sites d'études, sélectionnés pour leurs caractéristiques qui leur confèrent une spécificité pour le bassin du Rhône (viticulture, grand lac alpin, zones prioritaires pour la contamination des eaux, suivis en cours...)
- d'évaluer l'impact de la contamination locale sur la structure et la fonctionnalité de ces communautés, en ciblant des fonctions écologiques majeures (contribution aux cycles biogéochimiques, potentiel de biodégradation...).

La démarche proposée présente ainsi l'originalité de s'intéresser principalement aux fonctions écologiques assurées par les communautés naturelles en dépassant la simple étude de cas puisqu'il s'agira de considérer des écosystèmes lotiques caractérisés par des profils de contamination très différenciés (i.e. PCBs/HAPS vs métaux/pesticides).

En complément, et d'un point de vue plus opérationnel, il ambitionne également d'apporter des éléments de connaissance pour une meilleure prise en compte du compartiment sédimentaire, et du rôle fonctionnel des communautés en place dans ce compartiment, dans l'évaluation de la qualité écologique des milieux aquatiques lotiques.

## Objectifs et méthodologie (1p) :

Les actions prévues visent à :

- mettre au point un protocole permettant de mesurer les activités de décomposition par les communautés microbiennes d'une part et par les invertébrés d'autre part, dans les sédiments superficiels des sites d'études
- sélectionner des stations de prélèvements caractérisées par des niveaux contrastés de contamination du sédiment (i.e. stations de référence vs stations contaminées) sur la base des connaissances existantes et d'analyses réalisées dans le cadre du présent projet
- évaluer les niveaux de contamination et caractériser la distribution des contaminants (i.e. fraction dissoute vs compartiment sédimentaire) sur les différentes stations sélectionnées. Les contaminants majoritaires (certains PCBs, HAPs et certains pesticides et métaux) seront sélectionnés pour cette caractérisation sur la base des connaissances existantes et des analyses réalisées dans le présent projet lors de la phase de sélection des stations.
- caractériser la structure et la fonctionnalité des communautés microbiennes et des communautés d'invertébrés dans les sédiments superficiels des différentes stations
- établir le lien entre les niveaux d'exposition mesurés et les effets observés sur les communautés

***Deux suivis seront programmés sur chacune des deux rivières étudiées (Ardières et Tillet) afin d'appréhender les variations spatiales (par comparaison des différentes stations sélectionnées sur chaque site) et temporelles des niveaux de contamination et des impacts associés.***

***Le bassin de l'Ardières*** est situé en zone très prioritaire « pesticides eaux de surface » de la région Rhône Alpes du fait d'une forte contamination de ses cours d'eau par les pesticides organiques et minéraux. En effet, le vignoble du Beaujolais fait partie des vignobles les plus consommateurs de pesticides (en raison des facteurs climatiques et des spécificités de pratiques), et la présence de cocktails associant notamment des herbicides, des fongicides, des insecticides mais également des métaux (en particulier Cu et As), a déjà été mise en évidence. Il existe également un enjeu local sur ce site, lié à la préservation du captage de Saint Jean d'Ardières, classé captage Grenelle prioritaire et situé en aval du bassin versant. Dans ce sens des liens ont déjà été élaborés depuis plusieurs années entre Irstea, le Syndicat Mixte des Rivières du Beaujolais (SMRB) et la Chambre d'Agriculture.

***Sur ce site, les deux suivis seront réalisés en 2017, respectivement en période de crue et d'étiage*** afin d'appréhender l'importance du contexte hydrologique dans la distribution des toxiques et dans leur impact écotoxicologique sur les communautés des sédiments. En effet, les périodes d'étiage peuvent notamment favoriser la présence de sédiments fins dans lesquels peuvent s'accumuler plus facilement les contaminants.

***Le continuum rivière Tillet - Lac du Bourget*** représente également un site d'étude stratégique en raison de la contamination aux polychlorobiphényles, provenant d'une activité industrielle historique sur le bassin versant. Le site industriel a été décontaminé en 2009-10. Le lit aval de l'affluent a également fait récemment l'objet d'une restauration écologique afin de limiter les apports de PCBs dans le lac ; mais un tronçon de la rivière, canalisé en souterrain dans la zone urbaine d'Aix les Bains, n'a pas été dépollué et constitue toujours une source active de PCBs. La zone aval, restaurée en 2012, subit donc toujours des apports et la zone côtière située à proximité de l'embouchure du Tillet (au petit port d'Aix) reste contaminée aux PCBs. Cette pollution de l'exutoire du Tillet et de la zone littorale lacustre induit une contamination des organismes aquatiques et notamment des espèces piscicoles, justifiant l'arrêt préfectoral d'interdiction de consommation de certains poissons (omble chevalier notamment).

***Dans ce contexte, les deux suivis programmés sur le Tillet seront respectivement réalisés en 2017 et 2018*** afin d'évaluer si les sédiments ont tendance à accumuler à nouveau des contaminants malgré la restauration récente de ce cours d'eau.

***Ces suivis feront appel à des compétences pluridisciplinaires en s'appuyant sur la complémentarité des différentes équipes de recherche en chimie, écologie microbienne et écotoxicologie.***

Ainsi, **la caractérisation des niveaux de contamination** sera réalisée par le LAMA (Irstea) concernant les pesticides et les métaux, et par le LCME (USMB) concernant les PCBs et les HAPs.

**La réponse structurelle et fonctionnelle des communautés microbiennes** sera évaluée à l'aide de :

- différents descripteurs d'activité : mesure *in situ* des taux de décomposition de matière organique, mesure de potentiel enzymatique (ex.  $\beta$ -glucosidase, leucine aminopeptidase, phosphatase, enzymes antioxydantes...), mesure d'activités métaboliques potentielles (respiration, nitrification, dénitrification, méthanogénèse et méthanotrophie...)
- différentes approches moléculaires : analyse de la structure de la communauté par PCR-ARISA et évaluation de la taille et de la diversité de communautés d'intérêt fonctionnel (approches de qPCR et de génotypage ciblées sur des gènes d'intérêt)

Tous ces approches sont maîtrisées ou en cours de développement au sein de l'équipe EMHA (Irstea) et du CARTELE (USMB), avec une forte complémentarité en terme d'outils et de compétences entre ces deux équipes.

**La réponse structurelle et fonctionnelle des communautés d'invertébrés** sera évaluée à partir de la mesure des taux de décomposition de substrats carbonés (approche Bait Lamina et/ou utilisation de substrats artificiels standardisés) et d'une évaluation de la diversité (par analyse morphologique et par une approche de séquençage à haut débit [barcoding]). Ces approches sont maîtrisées par le CentreEcotox de Lausanne, qui apportera également son expertise en écotoxicologie des sédiments, notamment concernant la stratégie d'échantillonnage à mettre en œuvre.

#### Références bibliographiques

*Battin TJ, Wille A, Sattler B, Psenner R, 2001. Phylogenetic and functional heterogeneity of sediment biofilms along environmental gradients in a glacial stream. Appl. Environ. Microbiol. 67, 799-807.*

*Centre Ecotox, 2012. Surveillance de la qualité des sédiments en Suisse : état actuel des méthodes disponibles et mise en place de recommandations. Rapport final, 27 p.*

*de Deckere E, de Cooman W, Leloup V, Meire P, Schmitt C, von der Ohe PC, 2011. Development of sediment quality guidelines for freshwater ecosystems. J. Soil. Sed. 11, 504-17.*

*European Commission, 2010. Common implementation strategy for water the Framework Directive (2000/60/EC): Guidance Document No. 25 on Chemical Monitoring of Sediment and Biota under the Water Framework Directive.*

#### Rappels

**Tout projet ZABR doit répondre à 5 critères** : être pluridisciplinaire, entrer dans les problématiques scientifiques de la ZABR, impliquer au moins 2 équipes du GIS ZABR, s'appliquer sur un site ou un observatoire de la ZABR, provenir d'équipes ayant une production scientifique internationale garantissant la valorisation future du travail de recherche. Tous les renseignements sont disponibles sur le site internet de la ZABR. <http://www.zabr.org>

Remarque : le critère de site ou d'observatoire peut être levé s'il est démontré : soit que l'action est en lien avec des travaux en cours sur un site ou un observatoire de la ZABR (ex : test d'un outil sur un autre secteur), soit si l'action permet une analyse comparative avec les travaux réalisés sur les sites et observatoires et nécessite de passer à l'échelle du bassin versant du Rhône.

#### **Modalités d'intervention de l'Agence de l'Eau :**

*Règle générale : une subvention de 50% d'un budget prévisionnel HT*

**Montant global alloué par l'Agence de l'Eau sur l'accord cadre AE ZABR : 250 k€ à 300 k€/an**