EAU ET SANTÉ

8e CONFÉRENCE EAU & SANTÉ

14 & 15 novembre 2023 - Villeurbanne

graie
PÔLE
EAU & TERRITOIRES

Avec le soutien de

MINISTÈRE DE LA TRANSITION ÉCOLOGIQUE ET DE LA COHÉSION DES TERRITOIRES
Liberté
Égalité
Fraternité

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
Liberté
Égalité
Fraternité

agence de l'eau RHÔNE MÉDITERRANÉE CORSE

agence de l'eau Loire-Bretagne

SOUTIEN FINANCIER · OFFICE FRANÇAIS DE LA BIODIVERSITÉ

En partenariat avec

MÉTROPOLE GRAND LYON

astee

PROMISE

RISMEAU SIPIBEL
Site Pilote de Bellecombe

Environnement Risques Santé ERS

H_2O'Lyon
Université de Lyon

INRAE

IMPACTS DE L'ÉPANDAGE AGRICOLE DE MATIÈRES FERTILISANTES D'ORIGINE RESIDUAIRE (MAFORS) SUR LES VERS DE TERRE (*Eisenia fetida*)

quelques éléments de la bioaccumulation des résidus de médicaments et biocides lié à l'épandage

Jean-Philippe Bedell [a], Olivier Roques [a] , Laure Wiest [b] , Rémy Bayard [c]

[a] Univ Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, CNRS, ENTPE, UMR 5023 LEHNA, F-69518, Vaulx-en-Velin, France

[b] Univ Lyon, CNRS, Université Claude Bernard Lyon 1, Institut des Sciences Analytiques, UMR 5280, 5 Rue de la Doua, F-69100 Villeurbanne, France

[c] INSA Lyon, Laboratoire DEEP EA7429, Université de Lyon, 9 rue de la Physique, 69621, Villeurbanne, France.

RISques liés aux résidus de Médicaments, biocides et antibiorésistance d'origine humaine et vétérinaire sur les ressources en EAU du bassin versant de l'Arve

RISMEAU SIPIBEL Site Pilote de Bellecombe

Diagnostic sur le bassin versant de l'Arve

Observatoire SIPIBEL

Programme RISMEAU

Projet Télesphore

Évaluer les transferts de résidus de médicaments et biocides liés à l'épandage

Projet Perséphone

Évaluer les impacts environnementaux liés à l'épandage

Sol de référence

Mafors

Modèle biologique

Comment évaluer l'écotoxicité des Mafors dans un contexte d'épandage agricole ?

- Utilisation d'organismes modèles
- Suivis de marqueurs d'effets

Aiguës
Ex : survie, croissance, comportement

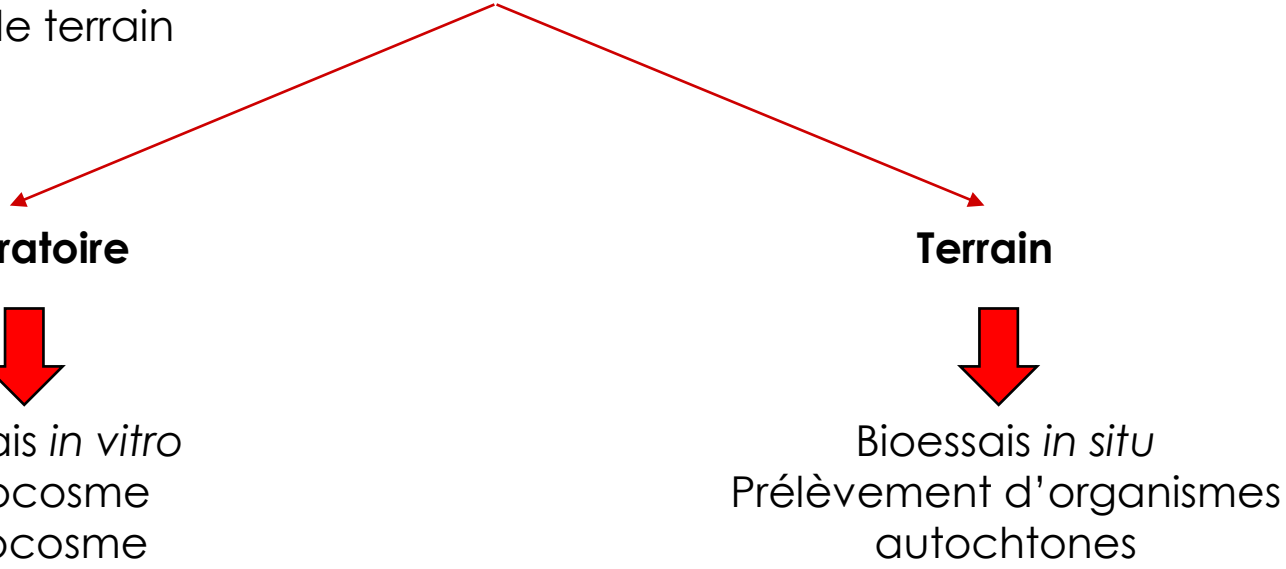
Chroniques
Ex : reproduction

Effets d'une dose d'épandage concentration élevée

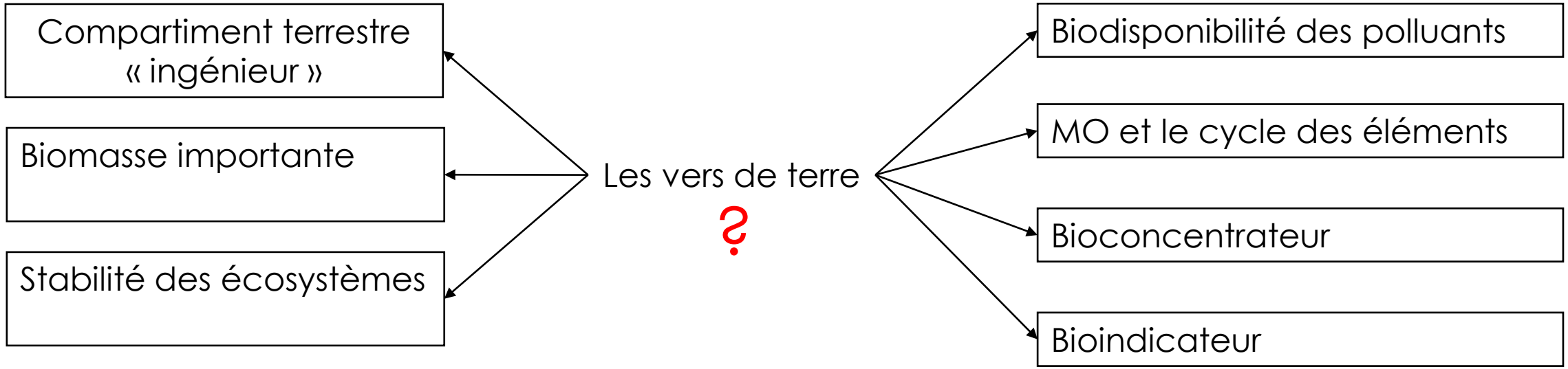
Effets d'une dose d'épandage agronomique / réaliste

Comment évaluer l'écotoxicité des Mafors dans un contexte d'épandage agricole ?

- Utilisation d'organismes modèles
- Suivis de marqueurs d'effets aigües (survie, croissance, comportemental) ou chroniques (reproduction)
- Essai en laboratoire et/ou sur le terrain



Modèle biologique



Modèle biologique

Un modèle biologique idéal

E. fetida (Savigny, 1826)

Eisenia fetida
Surnom : Vers de compost, de fumier
Masse adulte : 0,3 – 0,6 g (8 semaines)
Durée de vie : 2 ans
Localisation : Epigée (20er cm du sol)

→ Biologie et physiologie connue

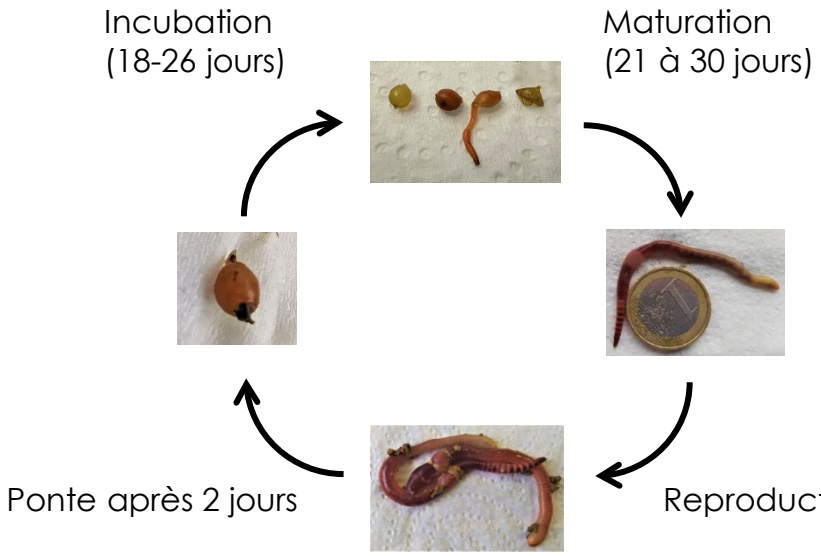
→ Sensibilité à divers polluants

→ Entrée des polluants par voies passives (contact tégumentaire) et actives (par ingestion)

Modèle biologique

Le **ver de fumier *Eisenia fetida***

Groupe fonctionnel : Épigée
Milieu de vie : Matière organique, litière
Reproduction : Hermaphrodite



Avantages :

- Cycle de vie rapide, facilement élevé en laboratoire
- Utilisé dans les normes internationales ISO
- Adapté au contexte de l'étude

Inconvénients :

- Moins sensible que les autres espèces de vers
- Moins représentative
- Rôle fonctionnel moins important

Autre espèce : *Aporrectodea caliginosa (INRAE Versailles)*

Zone d'étude

- Site d'expérimentation du programme RISMEAU
- Sol agricole avec une activité humaine réduite
- Représentatif de la zone d'étude

= Sol de référence

Choix des matrices

- Mafors représentative de la zone d'étude / à l'échelle nationale
- Épandues sans traitement
- Présences de résidus pharmaceutiques

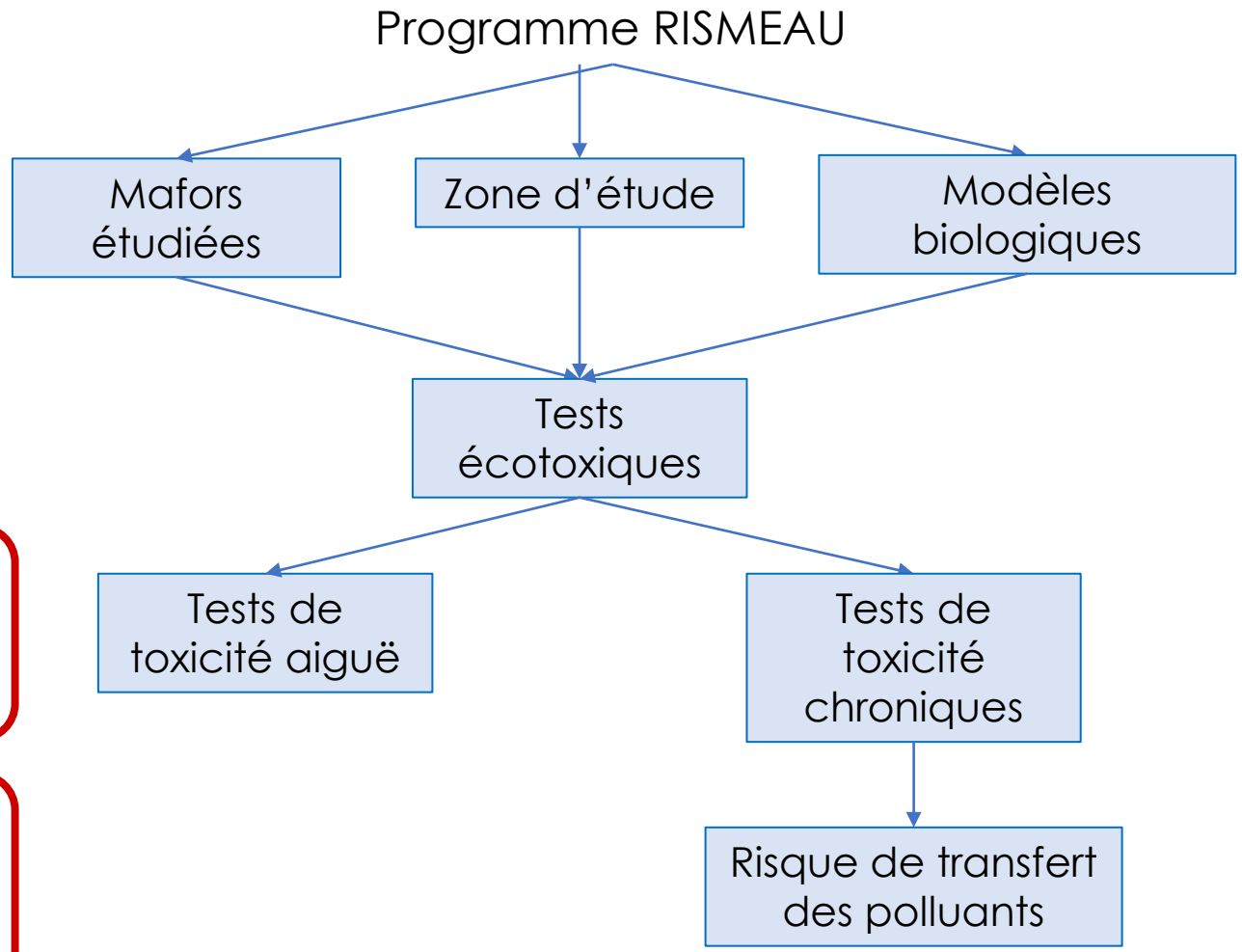
Boue d'épuration

Fumier de vache

Lisier de vache

→ pH élevé pour les effluents agricoles
→ Teneur en matières organiques similaires
→ Teneur en azote ammoniacale élevé dans le lisier

Approche expérimentale



RÉSULTATS
TESTS
ECOTOXIQUES

RÉSULTATS
TRANSFERT DES
POLLUANTS

Approche expérimentale. 1. Tests de toxicité aigües

RÉSULTATS 1

Tests écotoxiques

Test de toxicité aigüe

Temps court, à des doses élevées

- *Test de germination des plantes*
- Test de létalité des vers de terre
- *Test d'évitement des vers de terre*
- *Test d'activités enzymatiques*

Test de toxicité chronique

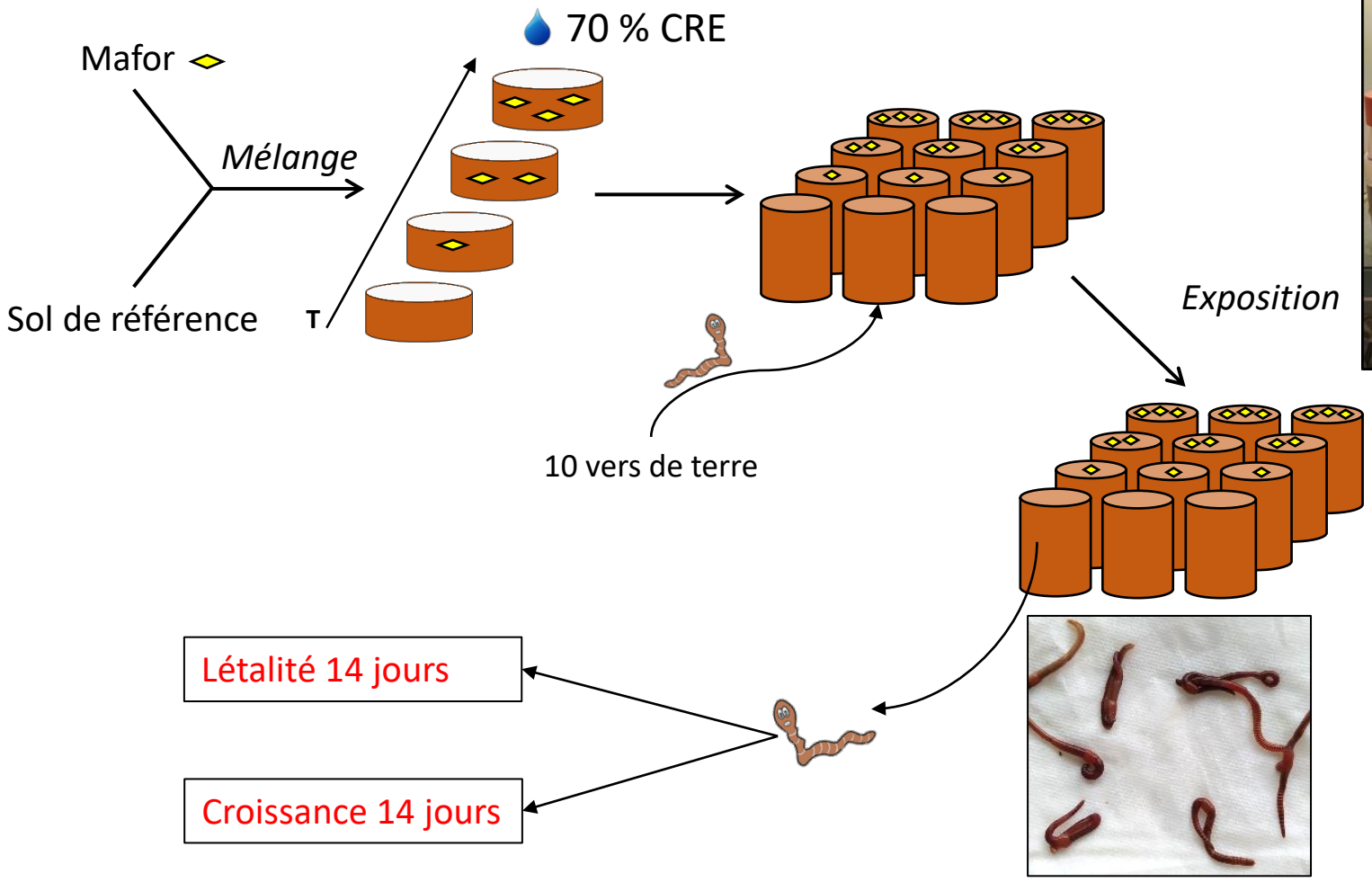
Temps long, à des doses faibles

- *Test d'émergence et de croissance des plantes*
- Test de reproduction des vers de terre

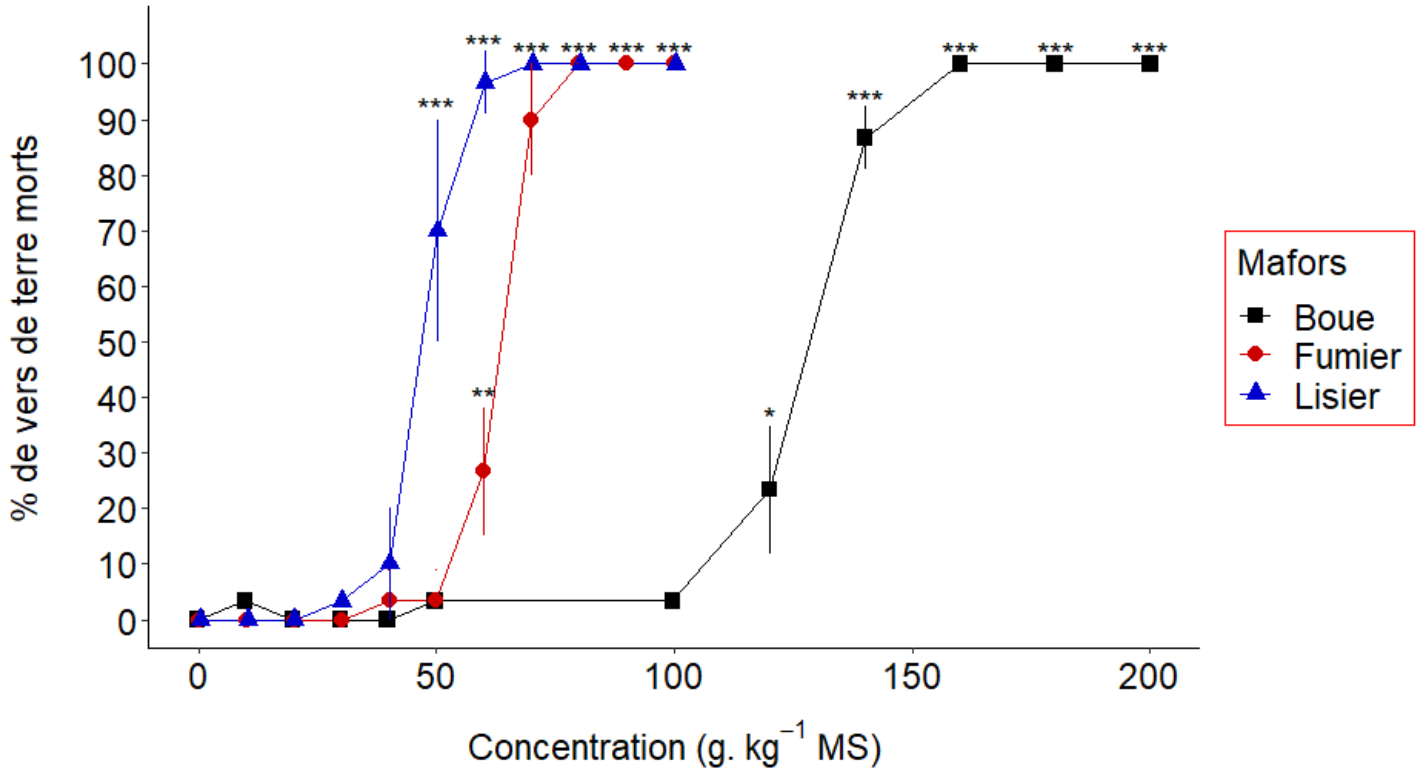
Roques O. et al. (2023 a)

Approche expérimentale. 1. Tests de toxicité aigües

Test de létalité des vers de terre – NF ISO 11268-1



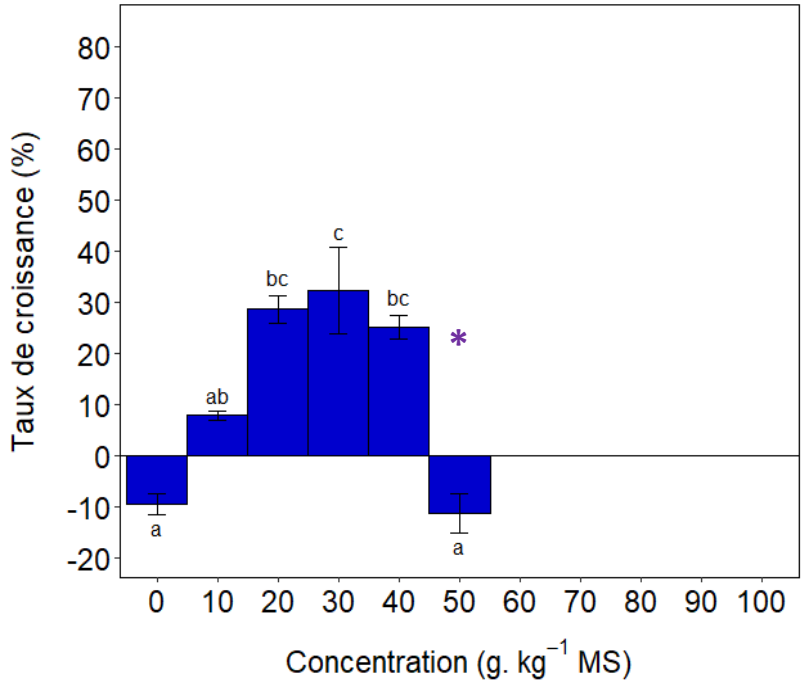
Tests de toxicité aigües: Résultats

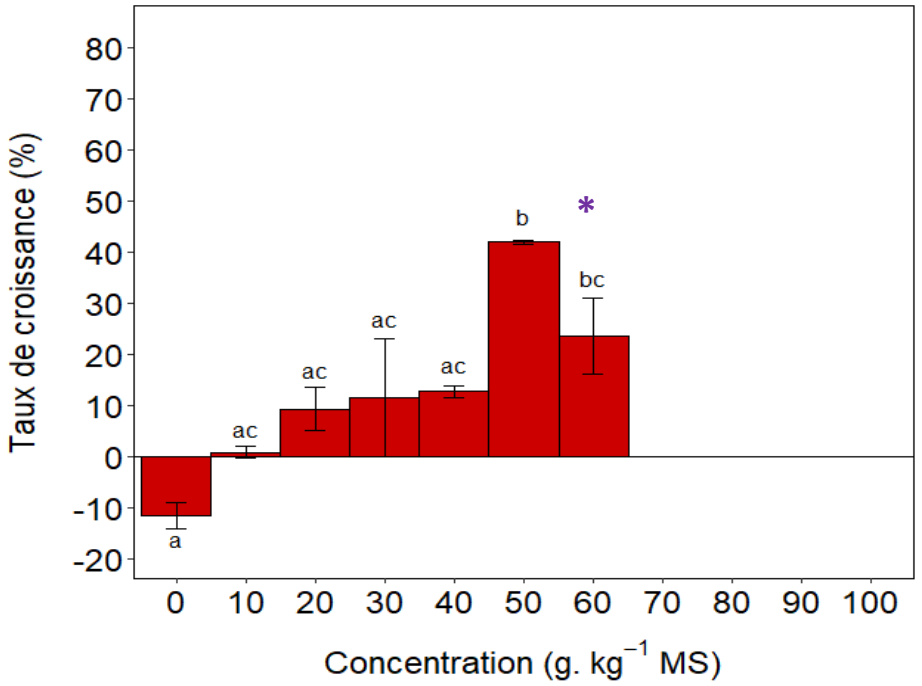


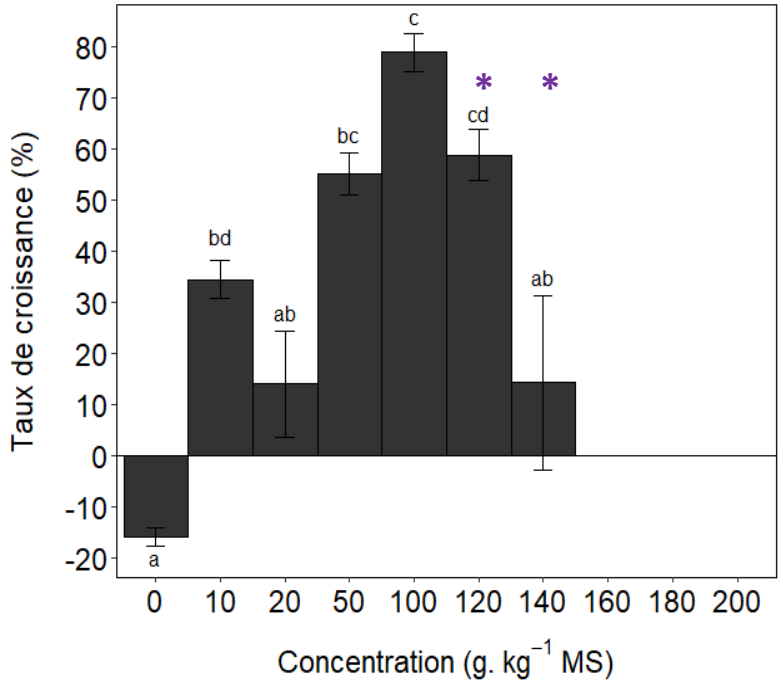
Effet de létalité observée pour les trois MAFORS
mais à des doses d'amendements différentes
Boue la moins létale (>100 g/kg MS)

Test de létalité des vers de terre – NF ISO 11268-1

Tests de toxicité aigües: Résultats







Mafors
- Boue
- Fumier
- Lisier

* Mortalité significative

- Témoin négatif normal car sol « pauvre »
- Effet sur la croissance des trois MAFORS
- Meilleure croissance avec Boue
- Doses les plus fortes avec Boue pour avoir létalité

Test de létalité des vers de terre – NF ISO 11268-1

Tests de toxicité aigües: Conclusions

		Effet (dose agronomique 1 à 2 %)		
		Boue	Fumier	Lisier
Test de germination des plantes	Germination			
	Croissance racinaire	+		
Test de létalité des vers de terre	Survie			
	Croissance	+	+	+
Test d'évitement des vers de terre	Évitement/attraction	+	+	
Microorganismes	Activité enzymatique	+	+	+

Approche expérimentale. 2. Tests de toxicité chroniques

RÉSULTATS 2

Tests écotoxiques

Test de toxicité aigüe

Temps court, à des doses élevées

- *Test de germination des plantes*
- Test de létalité des vers de terre
- Test d'évitement des vers de terre
- *Test d'activités enzymatiques*

Test de toxicité chronique

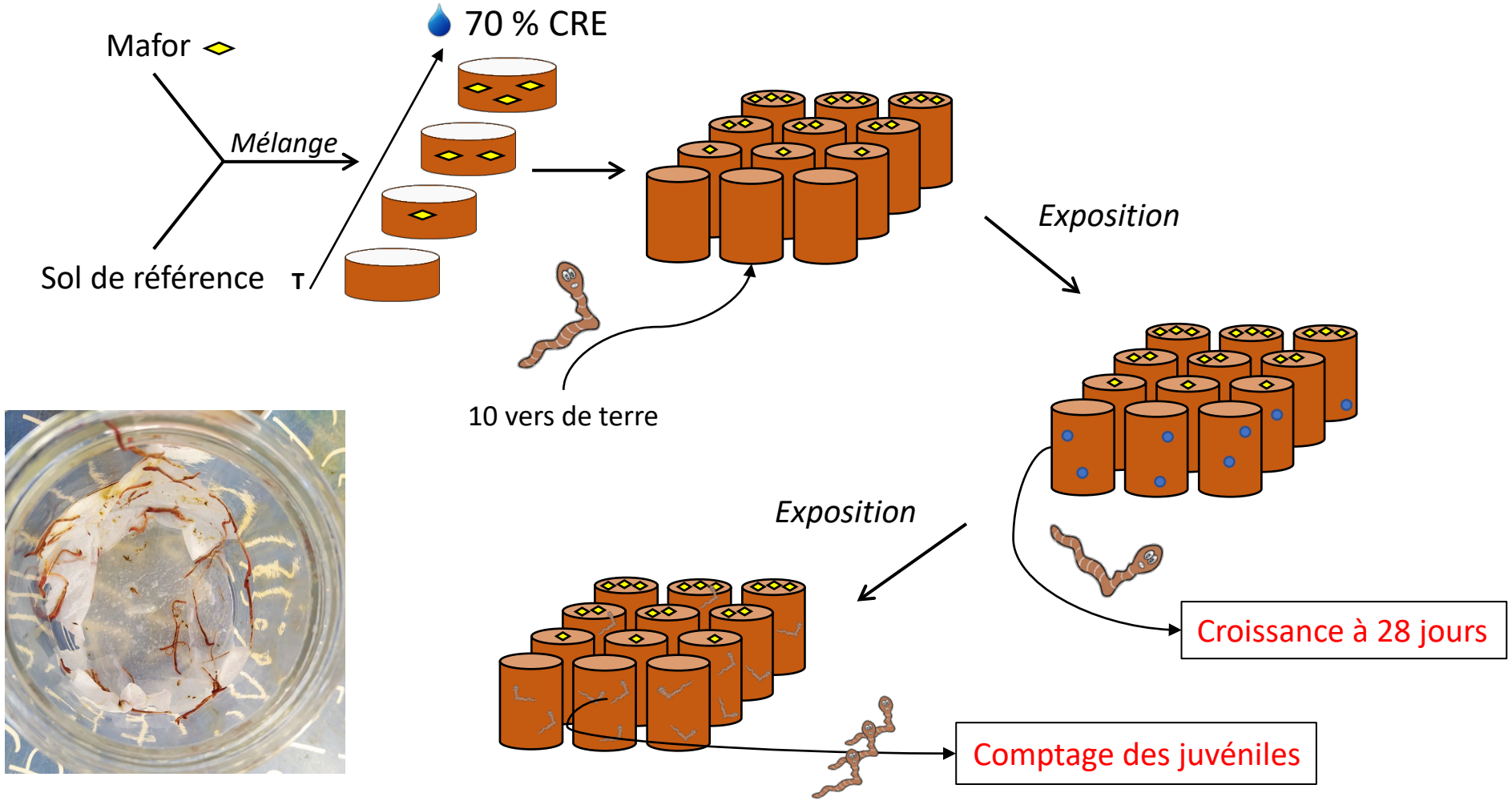
Temps long, à des doses faibles

- *Test d'émergence et de croissance des plantes*
- Test de reproduction des vers de terre

Roques O. et al. (2023 b)

Approche expérimentale. 2. Tests de toxicité chroniques

Test de reproduction des vers de terre – NF ISO 11268-1



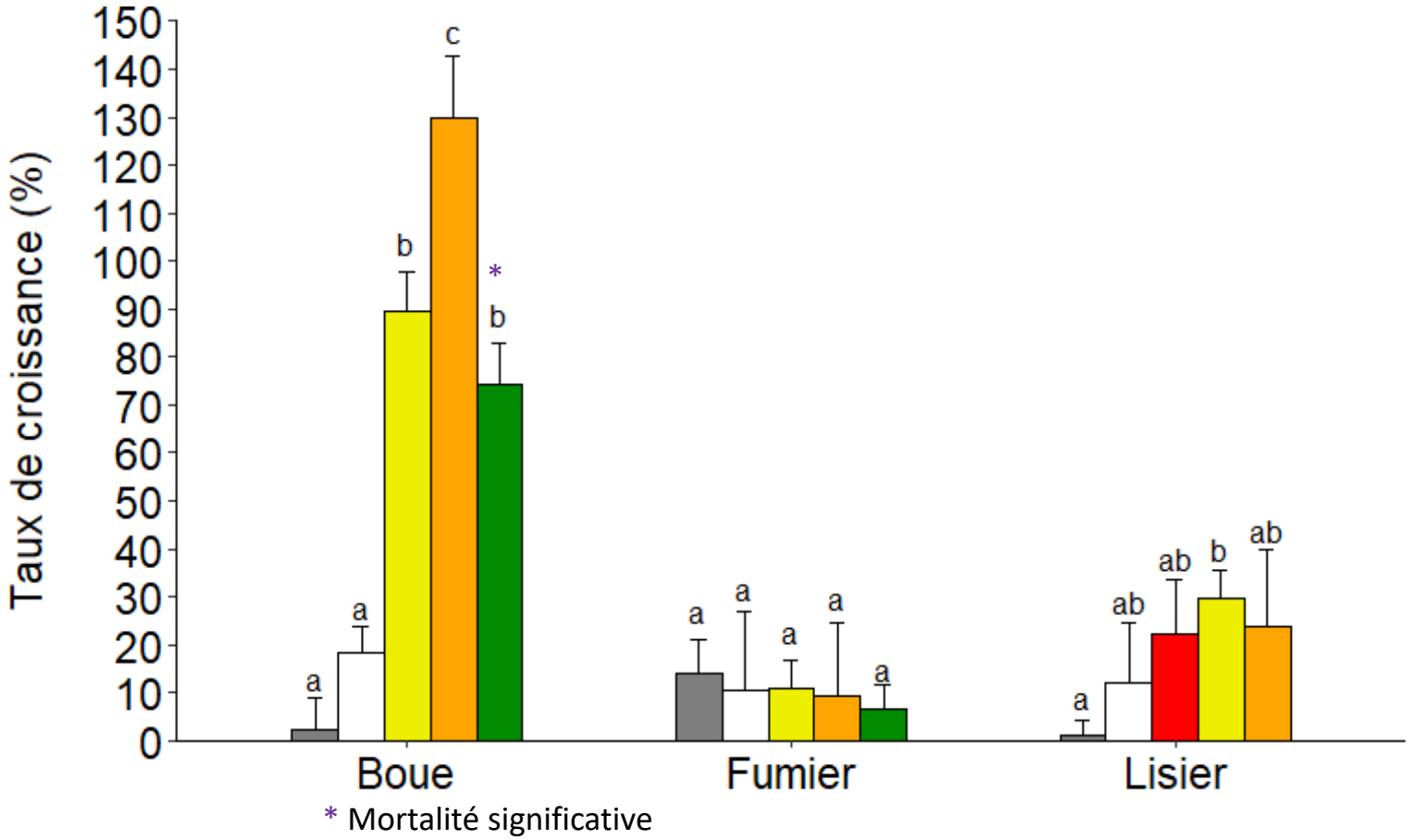
Approche expérimentale. 2. Tests de toxicité chroniques

Test de reproduction des vers de terre – NF ISO 11268-1

Comptage des cocons

Tests de toxicité Chroniques: Résultats

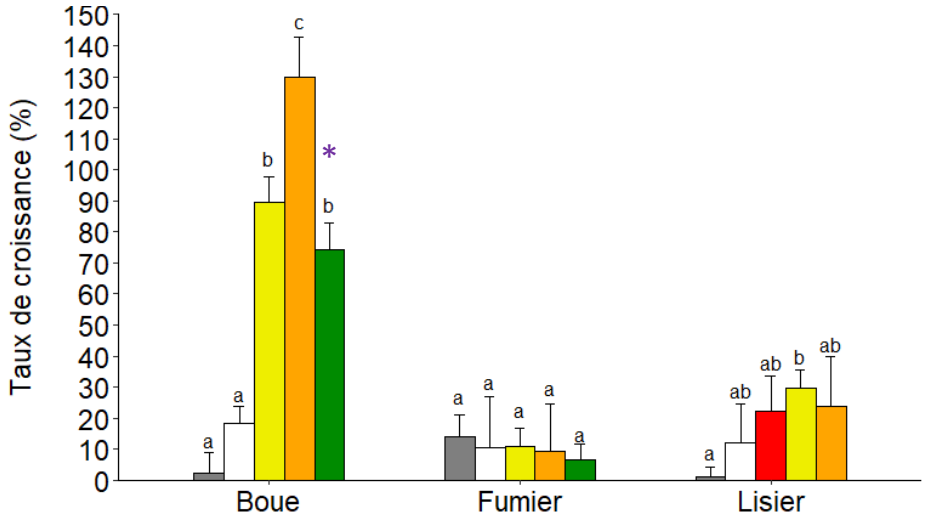
Test de reproduction des vers de terre

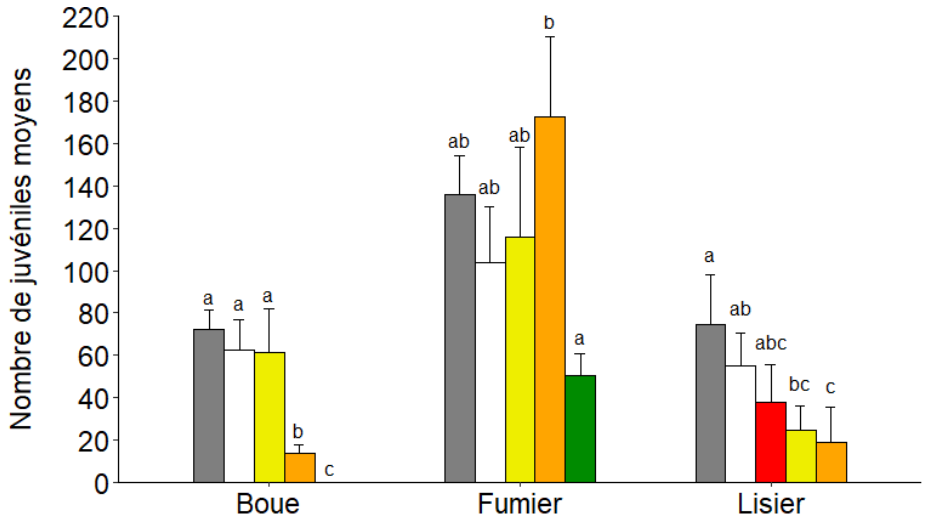


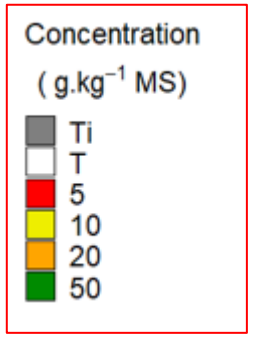
* Mortalité significative

- Augmentation du taux de croissance dans les sols amendés en boue

Approche expérimentale. 2. Tests de toxicité chroniques







- Augmentation du taux de croissance dans les sols amendés en boue

- Inhibition de la reproduction dans les sols amendés en boue d'épuration et en lisier

* Mortalité significative

Test de reproduction des vers de terre

Tests de toxicité chroniques : Conclusions

		Effets (doses agronomiques)		
		Boue	Fumier	Lisier
Test d'émergence et de croissance des plantes	Germination	++	+	+
	Hauteur des tiges	+	+	
	Masse fraiche des PA	+	+	+
	Masse fraiche des PR	++		
	Masse sèche des PA	++		+
	Masse sèche des PR	+		
Test de reproduction des vers de terre	Croissance	+		
	Reproduction	-		-

Approche expérimentale. 3. Transfert/Bioaccumulation ?

<u>RÉSULTATS 3</u>
Transfert des polluants

Résidus pharmaceutiques

- Sol
- Vers de terre

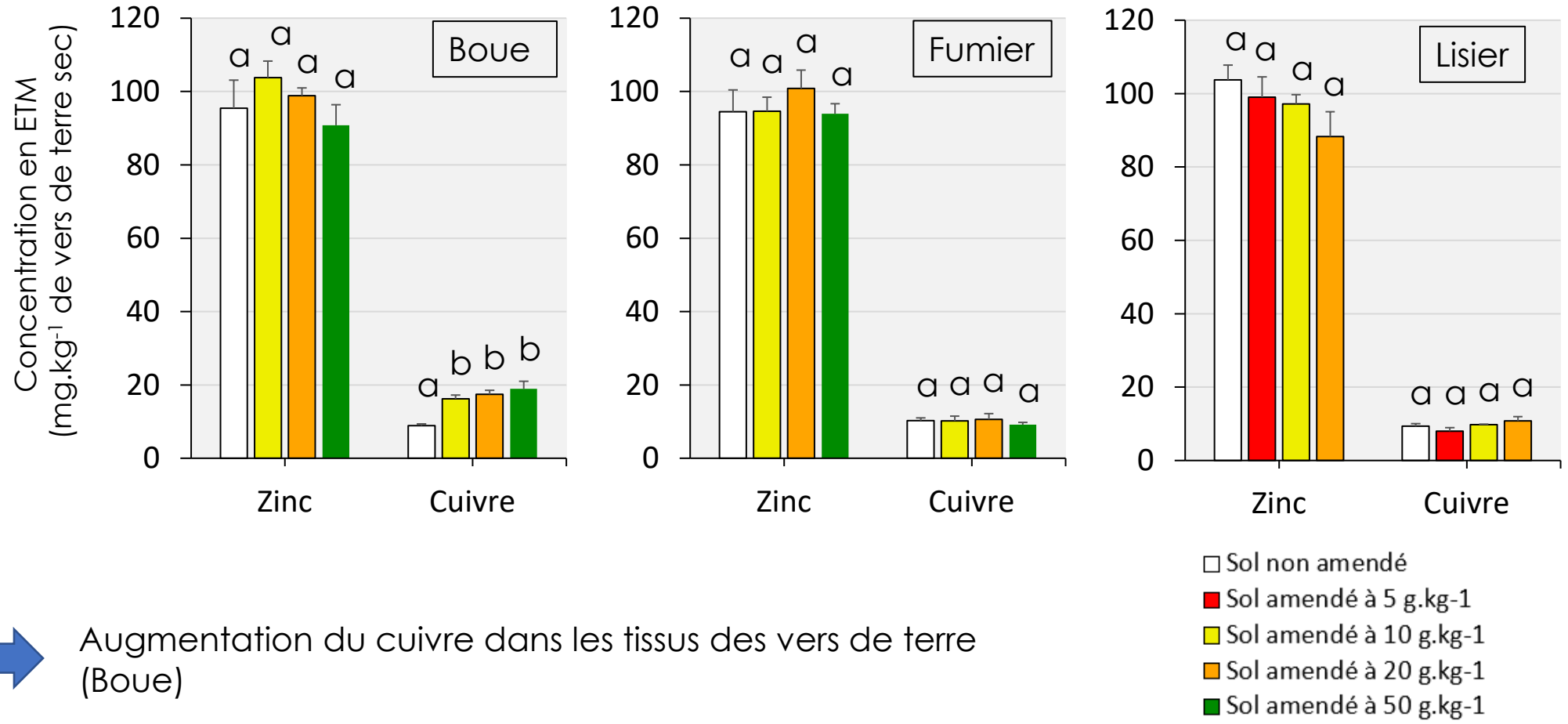
Éléments traces métalliques

- *Sol*
- Vers de terre
- *Plantes*

Thèse Olivier Roques (2023)

Résultats. 3. Transfert/Bioaccumulation ?

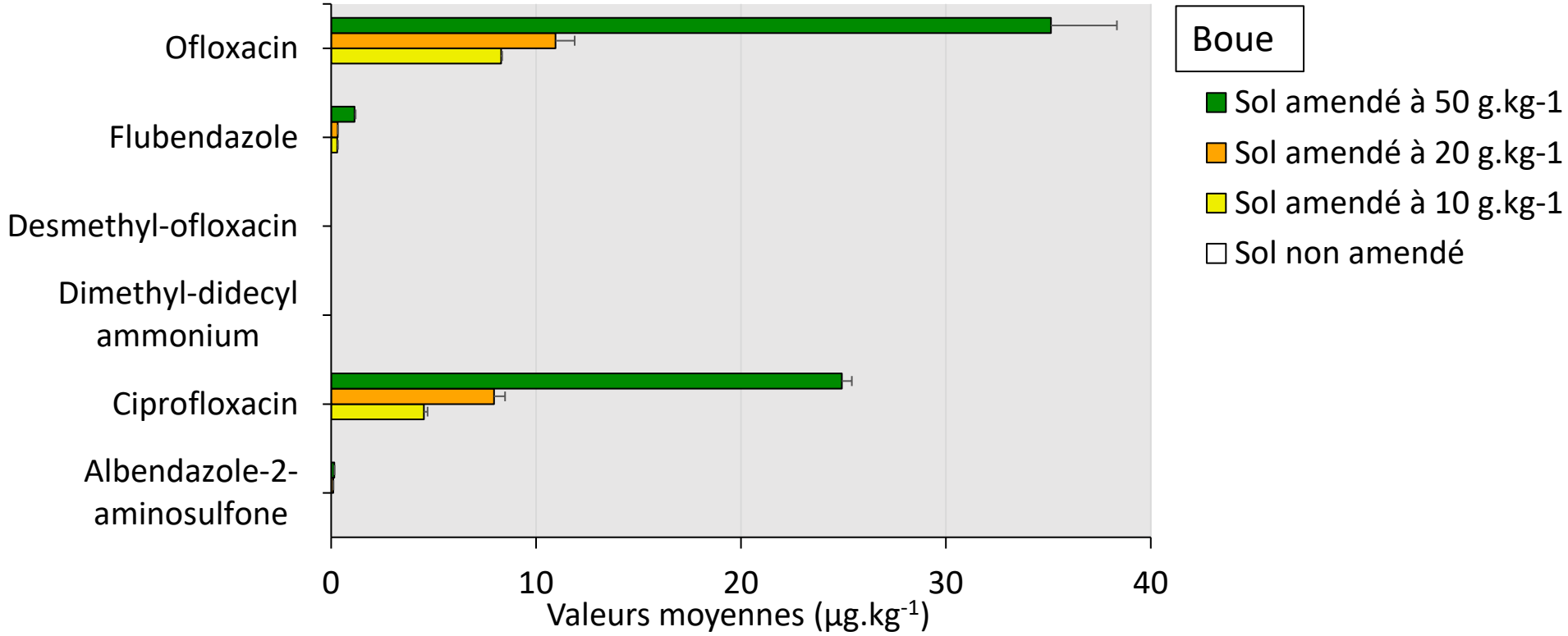
Test de reproduction des vers de terre – Vers de terre



Augmentation du cuivre dans les tissus des vers de terre (Boue)

Résultats. 3. Transfert/Bioaccumulation ?

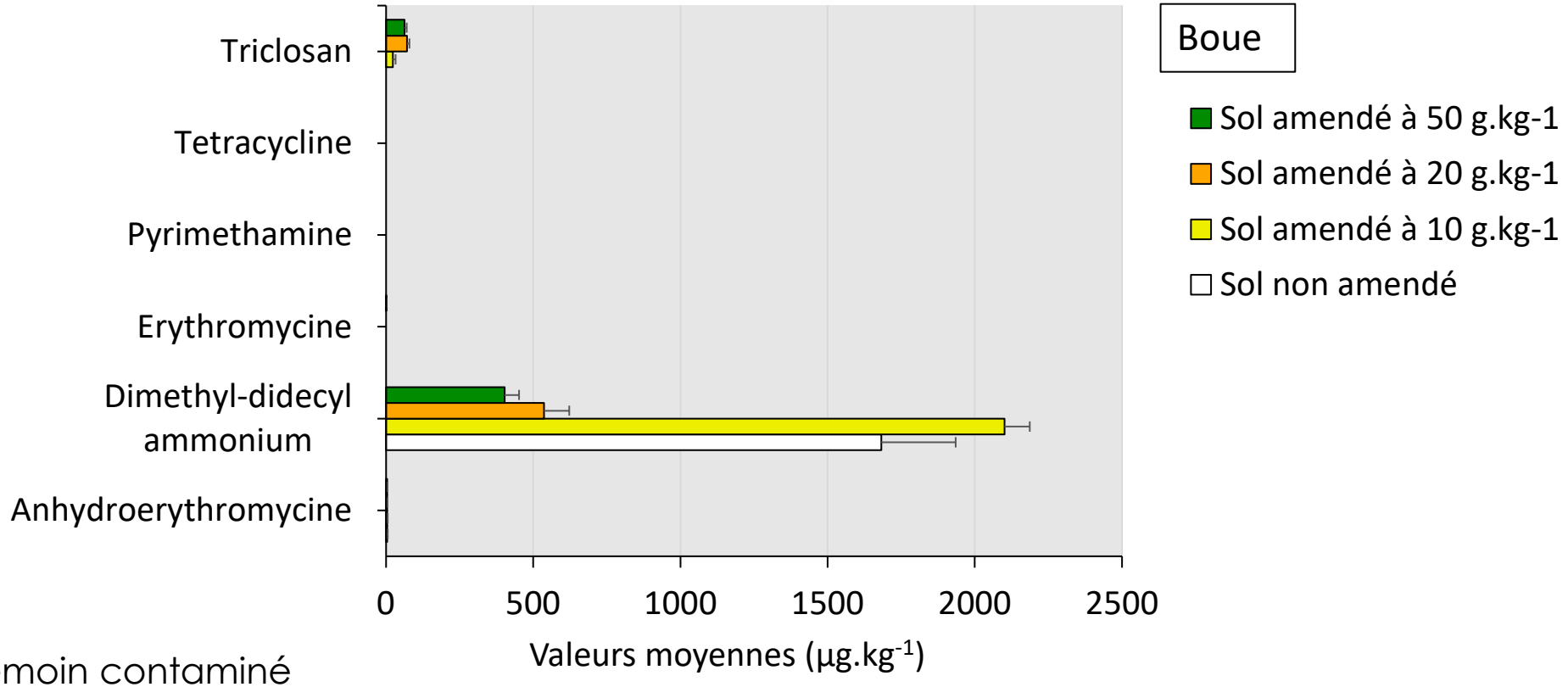
Test de reproduction des vers de terre – Mesures dans les matrices du test « Sols » et « Sols amendés »



- Résidus pharmaceutiques uniquement détectés et quantifié dans les sols amendés en boue d'épuration
- Seulement 6/33 résidus pharmaceutiques
- Chlorhexidine et dyméthyl-dydécyl-ammonium non quantifié/détecté

Résultats. 3. Transfert/Bioaccumulation ?

Test de reproduction des vers de terre – Vers de terre



- Témoin contaminé
- Molécule différente par rapport à celles quantifiés dans les sols
- Analyses compromises/répétabilité/seuil…
- Gamme de concentration faible

Conclusions

- Tests écotoxicologiques

✓ Effet sur la reproduction
(↘ 70 % pour boue et lisier de vache à 20 $g.kg^{-1}$ d'amendement unique)

✓ Perturbation des réserves énergétiques des vers de terre lors du test de reproduction

✓ Valeurs élevées des activités endocriniennes chez les trois Mafors (test YES/YAS et anti YES et anti-YAS)

- Transfert/bioaccumulation

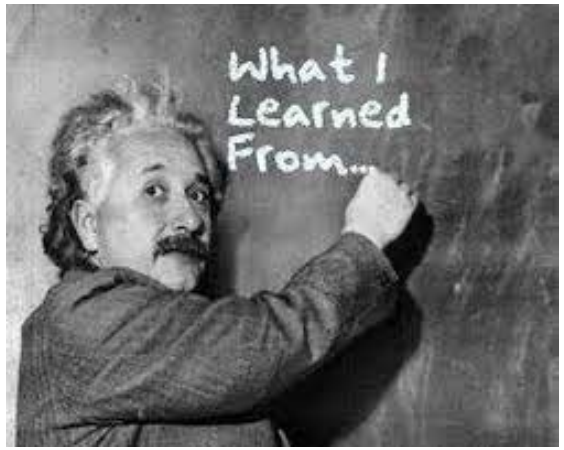
✓ Transfert potentiel possible résidus médicamenteux

✓ MAIS globalement peu ou pas de bioaccumulation

✓ Bioaccumulation du cuivre dans les vers de terre exposés à la boue

Prospectives/en cours

- État physiologique/réserves des VDT
- BAF ramené à teneur en lipides (VDT) et en C pour Sol et MAFORs
- Lien MO et sa qualité/typologie (bioaccessible versus bioassimilable)
- Identification (voir quantification) des hormones responsables des activités endocriniennes
- Essai test reproduction et bioaccumulation sur les sols des lysimètres



Et donc…

- Doses limites d'épandage proposées à ne pas dépasser: 50 $g.kg^{-1}$ pour le fumier et 10 $g.kg^{-1}$ d'amendement pour la boue et le lisier de vache

- Principaux enseignements:
  - → Tests aigues (±)
  - → mais tests chroniques VDT 👍 OUI

- Mesure de la bioaccumulation (technique) encore problématique

Références

- Olivier Roques, Jean-Philippe Bedell, Julia Le Maux, Laure Wiest, Sylvie Nélieu, Christian Mougin, Nathalie Cheviron, Olivier Santini, Vivien Lecomte, Rémy Bayard (2023 a). Assessing the potential ecotoxicological risk of different organic amendments used in agriculture: approach using acute toxicity tests on plants and earthworms. Archives of Environmental Contamination and Toxicology. DOI: 10.1007/s00244-023-00979-2
- Olivier Roques, Julia Le Maux, Dominique Patureau, Sylvie Nélieu, Isabelle Lamy, Rémy Bayard, Jean-Philippe Bedell (2023 b). Assessing the chronic toxicity of spreading organic amendments on agricultural soil: tests on earthworms and plants. Ecotoxicology and Environmental Safety (https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.115504)
- J.-P. Bedell, O. Roques, and R. Bayard (2023). From the importance of organic carbon in reproduction tests with Eisenia fetida. Environmental Toxicology and Pharmacology (accepted)
- Olivier Roques (2019-2022) : Impact à court et long termes de mélanges de polluants émergents (résidus médicamenteux) et métaux lourds liés aux épandages agricoles sur la faune (et flore) terrestre. Bourse ED Chimie Lyon co-tutelle avec Rémy Bayard (LGCIE-INSA Lyon). Soutenu le 27/01/2023. 267p.

Autres références :

- Claudia Coelho (2017-2019) : Evaluation de la mobilité et du transfert des RFBs dans les plantes et vers de terre de matrices contaminés. Bourse Labex DRIIHM –CNRS. Directeur : Jean-Philippe Bedell (LEHNA-IAPHY, UMR 5023) – thèse soutenue le 30/09/2019 et obtention du diplôme labélisée européen. 265 p.
- Carbonell, G., Pro, J., Gómez, N., Babín, M.M., Fernández, C., Alonso, E., Tarazona, J.V., 2009. Sewage sludge applied to agricultural soil: Ecotoxicological effects on representative soil organisms. Ecotoxicology and Environmental Safety 72, 1309–1319. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2009.01.007
- Li, D., Hockaday, W.C., Masiello, C.A., Alvarez, P.J.J., 2011. Earthworm avoidance of biochar can be mitigated by wetting. Soil Biology and Biochemistry 43, 1732–1737. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.04.019
- Oleszczuk, P., Hollert, H., 2011. Comparison of sewage sludge toxicity to plants and invertebrates in three different soils. Chemosphere 83, 502–509. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.12.061
- Parente, C.ET., Oliveira da Silva, E., Sales Júnior, S.F., Hauser-Davis, R.A., Malm, O., Correia, F.V., Saggioro, E.M., 2021. Fluoroquinolone-contaminated poultry litter strongly affects earthworms as verified through lethal and sub-lethal evaluations. Ecotoxicology and Environmental Safety 207, 111305. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111305
- Pivato, A., Raga, R., Vanin, S., Rossi, M., 2014. Assessment of compost quality for its environmentally safe use by means of an ecotoxicological test on a soil organism. Journal of Material Cycles and Waste Management 16, 763–774. https://doi.org/10.1007/s10163-013-0216-8
- Žaltauskaitė, J., Vaisiūnaitė, R., Sujetovienė, G., Dagiliūtė, R., 2016. Sewage sludge toxicity: comparison of plants and soil invertebrates response. Desalination and Water Treatment 86, 320–326. https://doi.org/10.5004/dwt.2017.21392