

## **ABREVIATIONS**

---

**AFB** = Agence Française pour la Biodiversité

**AFNOR** = Association Française de Normalisation

**ANOVA** = Analysis Of Variance

**ASPT** = Average Score Per Taxon

**CESCO** = Centre des Sciences de la Conservation

**DCE** = Directive Cadre sur l'Eau

**DE** = Efficacité de Discrimination

**DREAL** = Direction Régionale de l'environnement, de l'aménagement et du logement

**DRIEE** = Direction Régionale et Interdépartementale de l'Environnement et de l'Energie

**EQR** = Equivalent Quality Ratio

**IBGN** = Indice Biologique Global Normalisé

**IPV** = Indice Planète Vivante

**I2M2** = Indice Invertébrés Multi-métrique

**MANOVA** = Analyse de variance multivariée

**MNHN** = Muséum National d'Histoire Naturelle

**RCO** = Réseau de Contrôle Opérationnel

**RCS** = Réseau de Contrôle de Surveillance

**SPEAR** = SPEcies At Risk

**UT** = Unité toxique

**WWF** = World Wide Fund for nature

# TABLE DES MATIERES

---

## INTRODUCTION

<b>1. DEFINITION DE LA PROBLEMATIQUE .....</b>	<b>3</b>
1.1 APPROCHE DU DECLIN D'INVERTEBRES .....	3
1.2 EVALUATION DE L'EFFET DES PESTICIDES .....	1
1.3 L'ACQUISITION DE DONNEES.....	9
1.4 SYNTHESE .....	15
<b>2. PROPOSITION DE METHODOLOGIE.....</b>	<b>16</b>
2.1 ETUDE DE L'EVOLUTION DES POPULATIONS D'INVERTEBRES AQUATIQUES.....	16
2.1.1 <i>Les outils.....</i>	16
2.1.2 <i>Intérêt et limite de ces outils, liens entre eux.....</i>	20
2.1.3 <i>Utilisation des données disponibles.....</i>	22
2.2 ETUDE DE L'EFFET DES PESTICIDES SUR LES INVERTEBRES AQUATIQUES PAR LA METHODE SPEARPESTICIDES .....	22
2.2.1 <i>Un indicateur basé sur les traits écologiques.....</i>	22
2.2.2 <i>Faisabilité d'utilisation, intérêt et limite .....</i>	25
<b>3. MISE EN LIEN DE L'EVOLUTION DES POPULATIONS D'INVERTEBRES AQUATIQUES AVEC L'IMPACT DES PESTICIDES .....</b>	<b>27</b>
3.1 MISE EN EVIDENCE D'UN DECLIN POTENTIEL .....	27
3.2 MISE EN EVIDENCE DE LA RELATION PRESSION TOXIQUE ET SPEAR .....	29
3.3 LIEN ENTRE DECLIN ET SPEAR.....	30

## CONCLUSION

# TABLES DES FIGURES ET DES TABLEAUX

---

## *Figures*

Figure 1 : Principales méthodes écotoxicologiques utilisées pour l'étude des effets des pesticides sur les invertébrés aquatiques d'après Thybaud et Petit 1996 modifié .....	4
Figure 2: : Exemple d'un mésocosme construit par l'INERIS ( <a href="https://prestations.ineris.fr">https://prestations.ineris.fr</a> ) .....	7
Figure 3: Schéma du processus d'adaptation de la problématique initiale .....	15
Figure 4: Filet de type Surber; Source : IBGN Guide technique, Agence de l'eau (2e édition) .....	17
Figure 5: Exemple de diagrammes pouvant être obtenus par l'outil diagnostic de l'I2M2 ; Source : (Pouvreau, 2015).....	20
Figure 6: Explication du concept de filtres environnementaux d'après Caquet et al., 2011 modifié ...	22
Figure 7: Mise en évidence de l'intérêt de la création d'une nouvelle approche plus intégrative d'après Caquet et al., 2011 .....	23
Figure 8: Schéma de principe du concept SPEAR pesticides Source: Wikipédia .....	24
Figure 9: Principes de classifications des taxons en SPEAR ou notSPEAR d'après Roucaute et al.,2011 modifié .....	24
Figure 10: Relation pression toxique/SPEAR .....	29
Figure 11: Synthèse des différentes étapes de l'étude.....	31

## *Tableaux*

Tableau 1: Références bibliographiques consultées pour la recherche d'une méthodologie évaluant le déclin d'invertébrés.....	4
Tableau 2: Échelle de tolérance des grands groupes taxonomiques macroinvertébrés benthiques (Batino 2004).....	2
Tableau 3: Quelques études de terrain ayant conclu à l'existence d'un lien éventuel mais non prouvé entre la présence de pesticides et divers effets sur les macroinvertébrés.....	3
Tableau 4: Avantages et inconvénients des principales techniques écotoxicologiques existantes pour évaluer l'effet des pesticides sur les invertébrés, modifié d'après Thybaud et Petit 1996 .....	9
Tableau 5: Sites institutionnels consultés pour la recherche de données brutes invertébrés.....	11
Tableau 6: Sites institutionnels consultés pour la recherche de données brutes pesticides .....	13
Tableau 7 : Indices basés sur l'analyse des peuplements de macroinvertébrés; Source : IBGN Guide technique, Agence de l'eau (2e édition).....	16
Tableau 8 : Types de substrats à échantillonner pour le calcul de l'IBGN ; Source : L'indice Biologique Global Normalisé français (IBGN, Norme AFNOR NF T90 –350, 2004) : ses principes et son évolution dans le cadre de la Directive Cadre Européenne sur l'Eau .....	17
Tableau 9: Détermination de la note IBGN ; Source : L'indice biologique global normalisé (IBGN) : principes et évolution dans le cadre de la directive cadre européenne sur l'eau. ....	18
Tableau 10: Types de pression pris en compte par l'I2M2 (Pouvreau, 2015) .....	19
Tableau 11: Interprétation écologique de la note I2M2; Source : LABOCEA .....	20
Tableau 12: Comparaison entre l'IBGN et l'I2M2 .....	21
Tableau 13: Interprétation de la valeur du coefficient de corrélation.....	28

## Introduction

---

Un important déclin de la biodiversité a pu être observé durant ces dernières années (Butchart et al., 2010); ce qui a engendré de fortes inquiétudes au sein de la communauté scientifique. En effet, d'après une cinquantaine d'experts qui ont contribué à la rédaction du rapport de 2016 « Planète vivante » publié par le Fonds mondial pour la nature (WWF), la situation est alarmante. Cette analyse qui reprend de grandes études scientifiques publiées sur le thème du déclin accéléré des populations d'êtres vivants démontre notamment une très forte accélération de cette régression pour cinq grands groupes : les oiseaux, les mammifères, les amphibiens, les coraux et les cycadales, une famille de plantes anciennes.

De manière générale, le taux d'extinction des espèces est de 100 à 1 000 fois supérieur à ce qu'il était, il y a seulement quelques siècles, avant que les activités humaines ne commencent à altérer la biologie et la chimie terrestre. Cela signifie pour les scientifiques qu'une extinction de masse est en cours, la 6<sup>e</sup> seulement en 500 millions d'années. Plus précisément, entre 1970 et 2014, le rapport basé sur le suivi de plus de 16 700 populations dont 4.000 espèces conclut que le nombre de vertébrés sauvages s'est effondré de 60 % alors que le précédent rapport de 2015 évoquait un recul de 52 %. Le déclin des animaux d'eau douce atteint lui 83 % depuis 1970.

La raréfaction voire l'extinction de ces populations animales résultent de plusieurs facteurs notamment la fragmentation et la disparition des habitats (Pimm et Raven, 2000 ; Fahrig, 2010 ; Krauss et al., 2010 ; Essl et al., 2015), le réchauffement climatique (Thomas et al., 2004 ; Balint et al., 2011 ; Bellard et al., 2012), l'introduction d'espèces qui ,par la suite ,développent un caractère invasif (Clavero et al., 2009 ; Katsanevakis et al., 2014 ; Galiana et al., 2014 ; Early et al., 2016), la pollution (Barker et Tingley, 1992 ; Maiti et Chowdhury, 2013 ; Munir et al., 2016 ; McMullin et al., 2016) mais également l'intensification des activités humaines.

En effet, l'amplification des actions visant à répondre aux besoins des hommes peut souvent nuire aux populations d'autres espèces. C'est notamment le cas de l'agriculture, à travers l'utilisation des pesticides qui constitue une véritable menace pour les espèces endémiques. En octobre 2017, Hallmann et al. ont publié une étude montrant que la biomasse des insectes volants avait diminué de 75% en 27 ans, déclin qui a ensuite été corrélé avec l'intensification de l'agriculture. Si les populations d'insectes volants telles que les pollinisateurs, sont depuis longtemps suivies au vu des services qu'elles rendent à l'Homme, qu'en est-il des macroinvertébrés aquatiques ? Une diminution de leur richesse taxonomique et de leur densité est-elle observée ? Sont-ils également victimes de pollutions d'origine agricole ?

Les macroinvertébrés aquatiques présentent un intérêt bien moindre pour beaucoup d'entre nous : néanmoins, ils occupent une place essentielle dans les écosystèmes aquatiques en tant que compartiments intermédiaires entre les producteurs primaires et les organismes situés au sommet des réseaux trophiques comme les poissons, les amphibiens, les mammifères ou encore les oiseaux (Pourriot et al. 1983). Ces organismes benthiques (crustacés, mollusques, larves d'insecte) ont une taille supérieure à 0,5 mm et vivent à la surface des substrats immergés (plantes, sédiments, roche, etc...), au fond des lacs et des rivières (Hess et al., 2014). De plus, ils occupent de nombreuses niches écologiques, en particulier d'un point de vue trophique (filtreurs, herbivores, prédateurs, détritivores, omnivores).

Ces populations ont tendance à être relativement immobiles et, de ce fait, exposées en permanence aux constituants des eaux de surface qu'elles habitent comme par exemple les pesticides. De par leur toxicité, certains de ces pesticides peuvent avoir des effets nocifs sur ces organismes.

L'objectif initial de cette étude sera donc de tester l'hypothèse selon laquelle les densités d'insectes et d'invertébrés aquatiques ont diminué depuis les années 1970. Si celle-ci s'avère juste; une méthode complémentaire sera proposée afin que les données soient ensuite mises en corrélation avec la concentration de pesticides retrouvée dans les eaux.

## 1. Définition de la problématique

Afin de mettre en place une méthode permettant de tester l'hypothèse selon laquelle, en France, les densités d'invertébrés aquatiques ont diminué depuis les années 1970 en lien avec une augmentation de pesticides retrouvée dans les eaux, le choix des mots-clés, la collecte de jeux de données sont fondamentaux et constituent l'étape la plus importante dans l'analyse. En effet, la nature du jeu de données collecté déterminera (méthode d'échantillonnage, aire géographique, etc..) ensuite le choix de la future stratégie d'analyse.

### 1.1 Approche du déclin d'invertébrés

Dans le but d'établir une méthode adéquate pour répondre à la première partie de la problématique définie "évaluation du déclin de la densité d'invertébrés aquatiques", des recherches bibliographiques ont été effectuées dans un premier temps. En outre, les mots clés "invertébrés", "déclin de la biodiversité", "insectes aquatiques", "diversité aquatique", "étude de l'évolution des populations d'espèces (oiseaux, amphibiens, poissons, insectes...)", ainsi que ces termes traduits en anglais ont été entrés dans les moteurs de recherche google scholar ainsi que dans celui de la bibliothèque de l'Université de Tours.

Malheureusement, peu d'articles (Tableau 1) traitent de la méthode d'évaluation du déclin même d'une espèce ou d'un groupe d'espèces ; il s'agit le plus souvent d'un constat donnant lieu à d'autres études sur l'origine de ce même déclin. Ainsi, ils se centrent majoritairement sur la mise en relation d'un facteur défini avec ce dit déclin. De même, les études menées par l'association WWF présentées dans les rapports "Planète vivante" montrent le déclin de nombreuses espèces à travers l'utilisation d'un indice : l'IPV (Indice Planète Vivante). Cependant, dans ces rapports, il n'est pas mentionné la technique de calcul de cet indice. A travers ces différents articles, de nombreux taxons sont ciblés tels que les oiseaux, mammifères, poissons, amphibiens, reptiles et invertébrés.

En outre, les insectes volants sont particulièrement ciblés ; cet intérêt pour ces taxons pourrait s'expliquer par la mission majeure qu'ils exercent dans les écosystèmes et indispensable à la survie de l'Homme : la pollinisation. Les critères des stations de prélèvement sont quant à eux très diverses et pour certaines études mal voire pas du tout définis. De cette façon, certaines études se consacrent exclusivement aux zones protégées pour éviter tout élément anthropique pouvant agir sur les peuplements des espèces.

L'étude qui est menée ici ne pourrait prendre en compte les mêmes types de sites, puisque la deuxième partie consiste à mettre en relation les résultats sur les populations d'invertébrés aquatiques à l'utilisation des pesticides. D'autres études, encore, s'appuient sur des critères comme la température, la salinité, le taux d'oxygène, la hauteur d'eau, etc. Le fait de prendre en compte des sites de prélèvement présentant des variations concernant ces éléments pourrait permettre d'avoir une vision globale de l'état d'un peuplement d'une masse d'eau et ne pas uniquement se limiter à un habitat.

Tableau 1: Références bibliographiques consultées pour la recherche d'une méthodologie évaluant le déclin d'invertébrés

Bibliographie	Sources des données / Méthode de prélèvement	Espèces étudiées	Type de données	Critères des stations	Méthode d'analyse	Résultats obtenus
<i>More than 75 percent decline over 27 years in total flying insect biomass in protected areas</i> , Hallmann et al., 2017	Entomological Society Krefeld (1989 à 2016)	Insectes volants	- Biomasse totale - Température - Vitesse du vent - Précipitations	- 63 stations - Zones protégées	Analyse des variances Projection de la biomasse en fonction du temps (saison ou année)	Déclin de 76,7% de la biomasse en 27 ans
<i>Long-term changes in the abundance of flying insects</i> , Shortall et al., 2009	RIS suction traps (1973 à 2004)	- Insectes volants - Puis les plus gros ne pouvant pas traverser le tamis de 2mm × 2mm	Biomasse totale	- 4 stations - Température maximale la plus élevée de chaque semaine d'échantillonnage	Genstat Utilisation du log10 pour convertir les données de biomasse Régression linéaire	Tendance de déclin significatif pour l'une des stations
<i>Population trends of Finnish butterflies (Lepidoptera: Hesperioidae, Papilioidea) in 1991–2000</i> , Saarinen, Lahti et Marttila, 2002	The National Butterfly Recording Scheme in Finland (1991 à 2000) : observations par des amateurs volontaires et professionnels	Lépidoptères	Abondance	Quadrats de 100 km <sup>2</sup>	Régression linéaire simple	15 espèces en déclin
<i>La faune benthique d'une lagune Ouest Africaine (le Lac Nokoué au Benin), diversité, abondance, variations temporelles et spatiales, place dans la chaîne trophique</i> , Gnohossou, 2006	Reproduction artificielle des différents types de substrats (sceau, panier, fagot) immergés pendant 2 à 3 semaines Expérience sur une année	Zoobenthos	- Abondance - Densité - Nombre de taxons - Indice de Shannon - Biomasse	5 stations de salinité, saturation en oxygène, transparence et hauteur d'eau différentes	ANOVA Courbe de la biomasse en fonction du temps	Evolution des populations d'invertébrés aquatiques en fonction des saisons
<i>Long-term decline in abundance and distribution of the garden tiger moth (Arctia caja) in Great Britain</i> , Kelvin, Conrad et al., 2001	Pièges à lumière standard de Rothamsted placés par des volontaires	<i>Arctia caja</i>	- Nombre d'individus - Abondance annuel estimée	406 sites en Grande-Bretagne	Calculs : - Indice assemblé - Taux d'occupation annuel	Diminution lente à long terme de l'abondance

	(nombre non constant) de 1968 à 1998		- Moyenne géométrique nationale estimée		- Nombre moyen géométrique annuel par site  Régression multiple	
<i>Rapport Planète Vivante, WWF, 2018</i>	Source non renseignée, données disponibles selon les espèces et régions  Etude de 1970 à 2014	Mammifères Poissons Oiseaux Amphibiens Reptiles	Abondance	Selon la disponibilité des données	Calcul de l'IVP mais méthode non renseignée	Déclin global de 60% des vertébrés sauvages en moins de 50 ans
<i>Global biodiversity : Indicator of recent decline, Butchart et al., 2010</i>	Source non renseignée  Etude entre 1960 et 2010, diffère selon la disponibilité des données	Vertébrés Oiseaux	Non renseigné	Non renseigné	Calcul de 31 indicateurs de différentes catégories indiquant le pourcentage de changement	Déclin au cours des 4 dernières décennies
<i>Biodiversité des invertébrés aquatiques de la partie orientale de la baie et de l'estuaire de Seine : la base de données CISA, deux siècles d'observations, Ruellet et Dauvin, 2008</i>	Base de données géoréférencées CISA regroupant les premiers inventaires de la fin du XIXe siècle, les publications, les rapports scientifiques et les travaux universitaires  Estuaire et partie orientale de la baie de Seine  Etude de 1825 à 2006	1420 taxa d'invertébrés aquatiques	Abondance Fréquence Nombre de taxa	6 régions découpées selon la directive cadre sur l'eau	Non renseigné	Pas de régression constatée mais répartition inégale selon les régions

- Eléments de traitement de données intéressant : méthodes statistiques mettant en évidence une relation entre deux éléments et la nature de cette relation

Ainsi peu d'articles détaillent entièrement leur méthode allant de l'échantillonnage à l'analyse des résultats. Certains d'entre eux prennent d'ailleurs leurs données directement dans des bases de données privées dont la technique de prélèvement n'est pas décrite dans l'article. D'autres encore se basent sur le volontariat ; c'est à dire que des particuliers amateurs ou professionnels prennent part à l'étude en enrichissant les données brutes par leurs observations.

Cependant, cette méthode de recueil des données dépend du nombre de volontaires participant à l'opération. Ainsi, sur ce type d'étude, la quantité de données récoltées et le nombre de sites exploités peuvent varier d'une année à l'autre. Dans le cas d'une étude des populations d'invertébrés visant ensuite à mettre les résultats en relation avec l'utilisation de pesticides, cette technique d'obtention des données ne semble pas appropriée. En effet, il est indispensable que les données des invertébrés ainsi que celles des pesticides proviennent de localisations très précises et semblables pour les deux jeux de données.

Quelques articles ont développé leur méthode d'analyse de données afin d'étudier l'évolution des populations des espèces concernées. Tout d'abord, la mesure des biomasses des espèces étudiées est la méthode privilégiée dans la plupart de ces études. Ensuite, l'évolution est observée à l'aide de méthodes statistiques telles que l'analyse des variances ou la régression linéaire.

## 1.2 Evaluation de l'effet des pesticides

A l'instar des invertébrés, et pour tenter de répondre à la seconde partie de la problématique initiale qui vise à mettre en corrélation une diminution de la densité d'invertébrés aquatiques avec la concentration de pesticides retrouvée dans les eaux, une analyse des méthodes existantes dans la littérature scientifique permettant de répondre à des problématiques similaires à la nôtre a été réalisée.

Plusieurs moteurs scientifiques de recherche ont été utilisés : Pubmed, The Society of Environmental Toxicology and Chemistry, Sciencedirect, ResearchGate, Elsevier Google scholar et de nombreux mot-clés en anglais ont été notamment recherchés. Citons à ce propos, les termes "pesticides", "effect of pesticides on aquatic invertebrates", "aquatic invertebrates", "drift of aquatic invertebrates", « ecological risk assessment", ou encore "insecticides" et "neonicotinoids".

Les suivis de la qualité des eaux de surface ont été mis en place dès le début des années 1970 et renforcés par la mise en œuvre de la Directive Cadre sur l'Eau (DCE). Deux directives et une circulaire s'appliquent aux eaux continentales :

- La directive « substances dangereuses » 76/464/CEE du 4 mai 1976 concerne la pollution causée par certaines substances dangereuses. Elle établit une liste de 132 substances toxiques dont 36 pesticides pour lesquels les rejets dans les eaux sont limités ou interdits. ([https://aida.ineris.fr/consultation\\_document/1111](https://aida.ineris.fr/consultation_document/1111))
- La circulaire du 7 mai 2007 fixe les normes de qualité environnementale provisoires (NQE<sub>p</sub>) de 41 substances. Parmi ces dernières figurent 15 pesticides : alachlore, aldrine, atrazine, chlorfenvinphos, chlorpyrifos, DDT, dieldrine, diuron, endosulfan, endrine, isodrine, isoproturon, lindane, simazine et la trifluraline. ([https://aida.ineris.fr/consultation\\_document/7285](https://aida.ineris.fr/consultation_document/7285))

- La directive 2009/128/CE du 24 novembre 2009 qui a poussé les Etats membres à adopter le 14 décembre 2012 des plans d'action nationaux ayant pour but de réduire les risques et les effets de l'utilisation des pesticides sur la santé publique humaine et l'environnement. Elle vise surtout à développer des méthodes ou techniques de substitution pour réduire la dépendance à l'égard de l'utilisation des pesticides. ([https://aida.ineris.fr/consultation\\_document/733](https://aida.ineris.fr/consultation_document/733))

Cependant, la surveillance des pesticides dans ce compartiment par les Réseaux de Contrôle de Surveillance (RCS) et les Réseau de Contrôle Opérationnel (RCO) est difficile car la pollution par ces substances des milieux aquatiques est généralement diffuse et transitoire. Elle est, de plus, souvent caractérisée par de faibles concentrations dans le milieu récepteur.

Entre 1980 et 2000, une dizaine d'études menées dans les cours d'eau ont montré l'existence possible mais non prouvée d'une corrélation entre la présence de pesticides (apport par ruissellement) dans le milieu et différentes réponses des invertébrés aquatiques vivant dans le milieu récepteur. Les études portaient soit sur divers taxons d'invertébrés soit sur un taxon en particulier.

Diverses échelles de tolérance des macroinvertébrés benthiques (Tableau 2) ont été testées par Madden et al, 1992, Rossana et al., 1991, Tada et Shiraishi, 1994 : organismes polluosensibles (éphéméroptères, trichoptères, bivalves), moyennement sensibles (crustacés, odonates) et polluotolérants (diptères).

*Tableau 2: Échelle de tolérance des grands groupes taxonomiques macroinvertébrés benthiques (Batino 2004)*

Echelle de tolérance	Groupes taxonomiques
SENSIBLE	Plécoptères
SENSIBLE	Ephéméroptères
SENSIBLE	Trichoptères
MOYEN	Crustacés (amphipodes, isopodes)
MOYEN	Odonates (anisoptères, zygoptères)
MOYEN	Coléoptères
MOYEN	Hémiptères
MOYEN	Lépidoptères
MOYEN	Mégaloptères
MOYEN	Diptères (sauf chironomidae)
TOLERANT	Diptères (chironomidae)
TOLERANT	Annélides (oligochètes, sangsues)

Les critères mesurés sont soit l'abondance des espèces, la composition des communautés, la déformation des pièces buccales (Madden et al, 1992) soit la dérive des invertébrés.

La dérive est un phénomène naturel qui désigne le flux d'organismes entraîné par le courant (Bournaud et Thibault 1973). De nombreuses études dont Dejous et Elouard 1977 et Back, Leblanc, et Aubin 1983, dénotent, en présence de pesticides et notamment de substances neurotoxiques, une augmentation de la dérive des invertébrés, morts (Eidt 1975) ou vivants (Morrison et Wells 1981). En effet, ces derniers peuvent rapidement mourir et être emportés, ou sous l'effet du stress se décrocher de leur substrat et se laisser emporter par le courant. Cet entraînement des animaux est souvent dû à une hyperactivité en réponse à l'exposition à des concentrations non létale de pesticides.

L'Abate® est une spécialité commerciale contenant un insecticide organo-phosphoré, le téméphos. C'est un larvicide puissant largement employé dans les pays en voie de développement, pour le traitement des eaux infestées par divers insectes contagieux, notamment les moustiques, les

anophèles, et les larves de simulies. Comme tous les autres organophosphates, le téméphos affecte le système nerveux central par inhibition de la cholinestérase. Il tue ainsi les larves avant l'âge adulte et donc avant quelle ne soient en âge de se reproduire.

Une étude de Dejous et Elouard a été réalisée en 1977 afin de montrer l'impact de cette substance sur la faune aquatique. Après pulvérisation d'un traitement, 50% des invertébrés du milieu ont été retrouvés morts en aval dans les filets de mesure. Dans le cas de traitements répétés, une sélection d'espèces polluotolérantes a lieu et de ce fait, le nombre de dérives comptabilisées était plus faible.

Cependant, dans toutes ces études, l'exposition n'a pas été évaluée de façon suffisamment fiable pour qu'un lien puisse être confirmé entre la présence de pesticides et les effets observés sur les macro-invertébrés. De plus, des paramètres tels que la nature de la substance évaluée, sa concentration ainsi que la durée d'exposition n'ont pas été toujours quantifiées (Tableau 3).

*Tableau 3: Quelques études de terrain ayant conclu à l'existence d'un lien éventuel mais non prouvé entre la présence de pesticides et divers effets sur les macroinvertébrés*

Références	Espèces	Critères	Substance	Quantification	Durée
Secondary production of benthic stream invertebrates in agricultural watersheds with different land management practices (ROSSANA et al., 1991)	Trichoptères (Hydropsyche spp.)	Abondance	n.d	non	n.d
Deformities in chironomid larvae as indicators of pollution (pesticide) stress (MADDEN et al, 1992)	Chironomidae	Déformation	DDT	n.d	n.d
Changes in Abundance of Benthic Macroinvertebrates in a Pesticide-contaminated River (TADA et SHIRAISHI, 1994)	Trichoptères (C. brevilineata) Diptères (Antocha spp.)	Abondance	Fenobucarb	22,4 µg/L	n.d
Effects of Land Use on Water Quality and Aquatic Biota of Three North Carolina Piedmont Streams (LENAT et CRAWFORD, 1994)	Diverses espèces d'invertébrés	Abondance	n.d	non	n.d
Effects of range land aerial application of Sevin4Oil ® on fish and aquatic invertebrate drift in the Little Missouri River, North Dakota (BEYERS et al. 1995)	Divers taxons d'invertébrés	Dérive	Carbaryl	0,1-85,1 µg/L (Application aérienne)	3h

*n.d : données manquantes*

Il existe trois grandes méthodes (Figure 1) visant à établir un lien entre les pesticides et les différentes réponses des invertébrés aquatiques : les études de laboratoire d'une part, les études en milieu naturel d'autre part et enfin les mésocosmes qui se situent, au niveau de la taille, entre les études de laboratoire et celles de terrain.

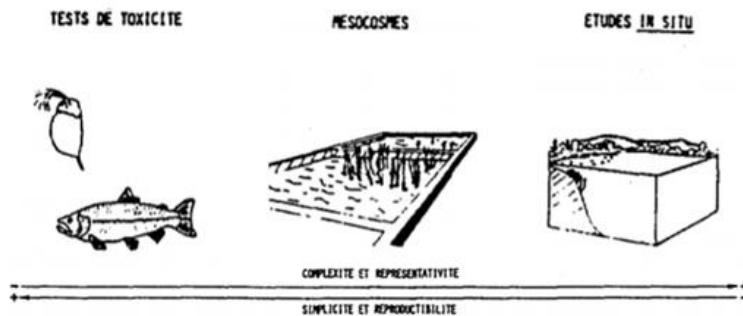


Figure 1 : Principales méthodes écotoxicologiques utilisées pour l'étude des effets des pesticides sur les invertébrés aquatiques d'après Thybaud et Petit 1996 modifié

- **Essais biologiques en laboratoire :**

Un essai biologique ou bioessai ou encore normalisation biologique est une évaluation de la toxicité d'une substance ou de plusieurs substances par l'observation, en laboratoire, des effets sur un organisme vivant (<http://www.ecotoxicologie.fr/laboph.php>).

Il permet dans des conditions expérimentales précises, de déterminer, la concentration de toxique ou la durée d'exposition nécessaire pour entraîner un effet déterminé. Il a donc pour but la détection et l'évaluation de l'écotoxicité potentielle d'une substance toxique vis-à-vis des organismes vivants.

Les essais normalisés tant au niveau national qu'international (AFNOR, ISO, UE, OCDE) présentent en commun un certain nombre de caractéristiques : leur reconnaissance par la communauté scientifique, leur capacité à prédire les effets d'une grande variété de substances sur des organismes différents, leur reproductibilité entre laboratoire, leur sensibilité et enfin leur facilité de réalisation et leur coût modéré (Thybaud et Petit 1996).

Ces essais biologiques permettent le contrôle complet des conditions expérimentales avec la réalisation éventuelle de triplicats et de plusieurs témoins. Ainsi, différents niveaux de concentration peuvent être appliqués à un ensemble de réplicats, de sorte qu'une relation dose-réponse puisse être établie entre le toxique et les individus étudiés.

Cependant, leur réalisme « écologique » est très critiqué car ces bioessais sont réalisés dans des conditions d'environnement conventionnelles (température constante, photopériode contrôlée, milieu artificiel, ...) souvent très éloignées des conditions environnementales naturelles (Tableau 4). En conséquence, ces tests en laboratoire présentent comme principal défaut de générer une grande incertitude quant à l'extrapolation des effets des pesticides.

En effet, divers paramètres sur le terrain influencent l'effet des pesticides et il est le plus souvent difficile de tous les prendre en compte dans les tests de toxicité standard en laboratoire :

- 1) ***Il existe des organismes sur le terrain encore plus sensibles que les organismes modèles testés en laboratoire possédant eux-mêmes une sensibilité déjà relativement élevée par rapport à de nombreuses espèces autochtones.***

C'est ainsi que les Copépodes, Décapodes, Trichoptères ont tendance à être moins sensibles que l'organisme modèle largement utilisé en recherche, *Daphnia magna*. Cependant, les Ostracodes et

Ephéméroptères sont eux, plus sensibles. Ces différences de sensibilité peuvent être expliquées par les différences physiologiques et morphologiques entre ces différents ordres (Wogram et Liess 2001).

## **(2) Les interactions au sein des populations et entre celles-ci peuvent avoir des effets indirects**

Les populations et les communautés dans la nature peuvent être directement et /ou indirectement affectées par l'exposition aux polluants. Alors que les effets directs des substances toxiques réduisent généralement l'abondance des organismes via la mortalité des individus, les effets indirects peuvent entraîner une augmentation ou une diminution de l'abondance (Fleeger, Carman, et Nisbet 2003).

Autrement dit, les effets directs de la substance toxique sur les organismes peuvent être partiellement compensés par la réduction indirecte de l'interaction (prédatation) négative intraspécifique ou interspécifique en présence du polluant (Caquet et al. 2007).

Pour une même concentration de polluant appliquée, une interaction négative forte entraîne une survie faible des organismes tandis qu'une interaction négative faible entraîne une survie plus élevée des organismes. Cependant, ce mécanisme de diminution de l'interaction et donc de compensation de l'effet des substances toxiques n'est observable que pour des concentrations de substances toxiques élevées  $\geq 1 \mu\text{g} / \text{L}$  (Liess 2002).

En conséquence, la réponse aux substances toxiques au niveau de la population ou de la communauté en présence d'une interaction négative diffère de la réponse au niveau individuel et par conséquent l'extrapolation des résultats aux systèmes naturels est difficile.

## **(3) des facteurs de stress environnementaux tels que la limitation des aliments pourrait modifier la sensibilité individuelle**

Plusieurs études (Beketov et Liess 2005), (Pieters et Liess 2006) ont eu pour but d'examiner comment des ressources alimentaires limitées, entraînant une compétition intraspécifique, pourraient interagir avec l'effet chronique de la contamination à court terme par les insecticides.

Les auteurs observent que dans des conditions alimentaires limitées, les effets mortels et sublétaux ont réduit la compétition entre les individus, ce qui a entraîné une augmentation significative de la survie finale.

Dans l'étude menée par Pieters et Liess (2006), sur l'organisme modèle *Daphnia magna*, les résultats ont montré que les conditions alimentaires maternelles faibles (comparées aux conditions élevées) accroissaient la taille de la progéniture au moment de la naissance, réduisaient l'âge à la première reproduction et augmentaient la capacité de reproduction pour une même exposition à court terme à l'insecticide qu'est le fenvalérat. Par conséquent, la réduction du taux de croissance de la population résultant de l'exposition à court terme aux pesticides semble être moins forte que celle des daphnies provenant de mères qui ont beaucoup mangé.

Ainsi, des changements dans les interactions entre individus, induits par les contaminants peuvent modifier l'abondance des espèces ou la composition de la communauté, et renforcer, masquer ou indiquer faussement des effets directs des contaminants.

**(4) l'exposition à des impulsions ultérieures ou à de multiples substances toxiques peut amplifier l'effet d'impulsions ou de substances toxiques uniques**

Dans les expositions à des substances toxiques pulsées, la concentration, la durée et la fréquence des impulsions peuvent changer dans le temps, comme c'est le cas dans le milieu naturel. Cependant, la méthode conventionnelle de concentration létale médiane (CL50) ne permet pas de prédire de manière adéquate les effets d'une exposition pulsée, car elle est associée à une durée d'exposition fixe et à une concentration constante et n'inclut pas la mortalité post-exposition.

De nombreuses études qui ont tenté de traiter les effets de l'exposition pulsée n'ont fourni que des prévisions qualitatives ou semi-quantitatives. Certaines expériences ont donc cherché à quantifier plus en détail l'effet des impulsions, ainsi que l'effet du temps de rétablissement entre deux impulsions sur la mortalité lors d'une seconde impulsion (Beketov et Liess 2005), (Zhao et Newman 2006).

En général, les animaux exposés à une seule impulsion d'insecticides (diméthoate ou de pirimicarbe) retrouvent leur mobilité après 24 à 48 h. Cependant, les animaux exposés à deux impulsions répétées ne retrouvent pas leur mobilité ou retrouvent une mobilité moindre au cours d'une période d'observation post-exposition de 48 heures et leur mortalité a aussi augmenté de manière significative (Beketov et Liess 2005).

Ainsi, une exposition répétée à des impulsions entraîne une augmentation significative de la mortalité chez les animaux qui s'étaient apparemment rétablis après une exposition à une seule impulsion. De plus, le temps de rétablissement a aussi un effet significatif sur la mortalité lors de la deuxième exposition. Avec suffisamment de temps, les amphipodes pourraient retrouver un état similaire à leur état de résistance aux substances toxiques d'origine. Comme on pouvait facilement l'imaginer, le temps de rétablissement varie en fonction de la substance毒ique appliquée.

Ces constatations illustrent le fait qu'il est important de tenir compte de conditions plus pertinentes pour l'environnement (substances toxiques pulsées, temps de rétablissement) lorsqu'on établit un lien entre les effets observés en laboratoire et les risques potentiels sur le terrain.

· **Mésocosmes :**

A l'origine, le terme de mésocosme a été créé par Odum en 1984 (Papy et al. 2001) pour définir les dispositifs expérimentaux artificiels délimités et partiellement clos qui se situaient, au niveau de la taille, entre les études de laboratoire et celles de terrain.

Depuis, la définition a évolué et les mésocosmes sont définis plus précisément comme des dispositifs expérimentaux physiquement confinés et constitués de plusieurs niveaux trophiques leur permettant d'être autosuffisants comme ceux construits par l'INERIS et l'INRA (Thybaud et al. 1999). Dans ces systèmes, par souci de réalisme écologique, les conditions naturelles de vie des espèces sont reproduites via l'introduction de principaux éléments constitutifs des écosystèmes naturels (sédiments, hydrophytes, populations d'invertébrés tels que les mollusques gastéropodes et les crustacés), les macro-invertébrés étudiés étant ceux naturellement présents dans les sédiments introduits (<https://prestations.ineris.fr>). De plus, tous les paramètres environnementaux, biologiques et physico-chimiques, sont contrôlés.

Un tel dispositif, comme par exemple celui visible en Figure 2 est mis en place pour étudier la réponse d'un milieu au dérèglement d'un ou plusieurs paramètres dans des milieux reconstitués. Ainsi, le devenir des substances toxiques injectées et la réponse des taxons étudiés à l'effet de ces mêmes

substances sur les organismes grâce à la mesure de variables qualitatives et/ou quantitatives peuvent être analysés conjointement.



Figure 2: : Exemple d'un mésocosme construit par l'INERIS (<https://prestations.ineris.fr>)

Pour pallier les lacunes des tests de laboratoire standards décrits précédemment, des mésocosmes sont utilisés dans de nombreuses enquêtes pour révéler les effets des pesticides sur les communautés d'invertébrés. Ces systèmes permettent, à l'instar des tests standards en laboratoire, l'utilisation de répliquats avec une communauté similaire, de sorte qu'une relation dose-réponse puisse être obtenue dans des conditions contrôlées. Cette méthode plus « intégrative » répertoriée dans le Tableau 4 présente l'avantage de prendre en compte divers paramètres permettant de déterminer l'effet des pesticides sur le terrain : la présence de différentes espèces de (1) sensibilités différentes, (2) le rétablissement avec application du contaminant par reproduction ou recolonisation et (3) les interactions biologiques entre individus.

Selon Crossland, Mitchell, et Dorn 1992, les mésocosmes tels que les rivières artificielles représentent un outil adapté au suivi des réponses comportementales des macro-invertébrés à la présence de polluants. En effet, la dérive des macro-invertébrés est un phénomène difficile à étudier de façon quantitative dans le milieu naturel, en raison du type de cours d'eau (variation profondeur et vitesse de courant) et des facteurs de confusion (dérive pour échapper aux prédateurs, dérive lors de variation du débit). Les rivières artificialisées permettent l'évaluation plus aisée de la proportion d'individus dérivant et donc une meilleure mise en relation avec le niveau de contamination du système (Papy et al. 2001).

Toutefois, une incertitude demeure quant à la mesure dans laquelle les résultats des études sur le mésocosme peuvent être extrapolés à la situation sur le terrain. En effet, les paramètres qui déterminent l'effet des pesticides peuvent différer considérablement entre les mésocosmes et la situation sur le terrain. De ce fait, les conditions dans les mésocosmes doivent correspondre le plus possible aux conditions de la communauté de terrain à protéger. Cela concerne en particulier, la sensibilité, les caractéristiques écologiques (par exemple, la reproduction, la mobilité, le temps de rétablissement) des espèces étudiées et leurs interactions biologiques. En plus, des facteurs de stress environnementaux et ceux relatifs à la connectivité spatiale entre les systèmes exposés et les systèmes de référence permettant le rétablissement doivent correspondre à la situation sur le terrain.

En ce qui concerne ce dernier paramètre, les observations de terrain effectuées par Caquet et al. 2007 sur le rétablissement par recolonisation des communautés de macro-invertébrés d'eau douce après exposition à un pesticide pyréthrinoïde (deltaméthrine) suggèrent que cela dépend de la proximité immédiate de zones non traitées pouvant servir de réservoirs pour la recolonisation d'individus.

- **Etude de terrain et test *in-situ* :**

L'observation des effets des pesticides sur le terrain contourne les problèmes posés par les systèmes artificiels décrits dans les tests de laboratoire standards et les mésocosmes. Les tests *in-situ* effectués directement dans le milieu naturel, permettent aussi de détecter les effets d'une pollution sur les organismes d'un cours d'eau en exposant via un échantillonnage des lots d'organismes (macro-invertébrés, crustacés, larves d'insectes,) dans les sites supposés contaminés.

Les approches *in-situ* incluent différentes méthodes comme celles de l'encagement qui est utilisée pour évaluer l'influence d'événements d'évacuation imprévisibles des eaux de ruissellement qui créent des durées d'exposition aux contaminants de longueur et de gravité inconnues (Schulz, 2005).

Outre les difficultés liées à la contention des animaux, qui peuvent avoir des conséquences sur l'exposition (colmatage des dispositifs de contention par exemple), cette méthode d'encagement présente l'inconvénient d'empêcher la dérive des animaux exposés, ce qui pourrait conduire à une surestimation de la toxicité (Liess et Schulz 2009).

Toutefois, bien que les études de terrain se développent, elles sont bien plus difficiles à mettre en place et à standardiser (Liber et al. 2007) que les tests standards de laboratoire. En effet, il semble compliqué d'établir un protocole pour ces études de terrain afin d'évaluer l'effet des pesticides sur les invertébrés et les chercheurs semblent travailler pour le moment « au cas par cas ».

Pendant plusieurs siècles, des expériences sur le terrain ont été menées sur les effets des pesticides rejetés dans les cours d'eau naturels (Matthiessen et al., 1995 ; Schulz et Liess, 1999 ; Rassmussen et al., 2013 ; Jergentz et al., 2004). Ces expériences permettent, en théorie, une comparaison claire de la situation avant et après l'événement (apport de pesticides par ruissellement) permettant d'établir les réactions de la communauté d'invertébrés et des modifications de la dynamique des écosystèmes.

Cependant, comme présenté auparavant par le tableau 3 ci-dessus, peu d'études ont véritablement réussi à prouver un lien entre la présence de pesticides et les effets observés sur les macro-invertébrés. Cela est dû à la difficulté de lier exposition et effet sur plusieurs sites caractérisés par un ensemble contrasté de paramètres physico-chimiques, eux-mêmes déterminant la composition de la communauté. Par conséquent, il n'est souvent pas possible de dériver une relation dose-réponse, étant donné que des réplicats comprenant une communauté similaire ne sont pas disponibles. De plus, la présence de facteurs de confusion rend difficile l'attribution des effets observés aux pesticides.

Il semble donc primordial de développer une autre méthode plus adaptée limitant les biais qui intégrerait des paramètres supplémentaires comme par exemple, le facteur de récupération par recolonisation/reproduction ou encore celui des interactions intra/interspécifiques. Idéalement, cette méthode sera standardisée afin de pouvoir comparer les études entre elles et donc d'augmenter la connaissance actuelle des effets de l'agriculture sur les invertébrés aquatiques.

Le Tableau 4 ci-dessous synthétise les avantages et inconvénients des principales techniques écotoxicologiques développées ci-dessus :

*Tableau 4: Avantages et inconvénients des principales techniques écotoxicologiques existantes pour évaluer l'effet des pesticides sur les invertébrés, modifié d'après Thybaud et Petit 1996*

	<b>Avantages</b>	<b>Inconvénients</b>
<b>Test de toxicité ou bioessai</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Simple à mettre en œuvre</li> <li>• Faible coût</li> <li>• Répétabilité</li> <li>• Standardisation aisée</li> <li>• Réponses facilement quantifiables</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Peu réaliste (pas de prise en compte de l'ensemble des variations telles que les conditions météorologiques, habitat de l'organisme, courant)</li> <li>• Simplification excessive des conditions environnementales</li> <li>• Difficulté pour extrapoler les résultats au niveau de l'écosystème</li> <li>• Choix de l'espèce test difficile</li> </ul>
<b>Mésocosmes</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Réalisme écologique</li> <li>• Possibilité d'études à long terme -suivi</li> <li>• Mise en évidence possible des processus écologique</li> <li>• En cours de standardisation</li> <li>• Contrôle du niveau de la contamination</li> <li>• Simplification de l'écosystème</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Coût élevé</li> <li>• Parfois trop grande complexité pour interpréter les résultats</li> <li>• Contrôle souvent non exhaustif des paramètres</li> </ul>
<b>Test terrain ou <i>in-situ</i></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Etude représentative de l'écosystème</li> <li>• Mesure de la « vérité »</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aucun contrôle du contaminant possible (source pesticide la plus souvent étudiée : apport par ruissellement)</li> <li>• Difficulté de connaissance exhaustive du passif écotoxicologique du site même si bases de données consultables</li> <li>• Non standardisé</li> <li>• Difficulté pour extrapoler les résultats à d'autres milieux que celui étudié – « cas par cas » -utilisé qu'en recherche</li> </ul>

### 1.3 L'acquisition de données

Dans un premier temps pour comprendre au mieux l'évolution des populations de macroinvertébrés aquatiques depuis les années 70, il est impératif d'obtenir des données brutes concernant l'échantillonnage de populations. Pour cela, les mots-clés "données invertébrés" et "données insectes aquatiques" ont été entrés dans le moteur de recherche google en français et en anglais.

Au cours de la recherche de ces données, plusieurs pistes ont été explorées. Les sites des acteurs institutionnels de l'eau : DREAL, AFB, NAÏADES, Ifremer environnement ont été consultés et des prises de contact, infructueuses, ont été réalisées avec un membre du CESCO et du Muséum National d'Histoire Naturel (MNHN).

En définitive, les données obtenues ne permettent pas de réaliser convenablement cette étude. En effet, les données les plus anciennes retrouvées datent de 2006 et les plus récentes de 2016 en sachant que pour un même site d'échantillonnage la plage de temps maximale est de 7 ans, ce qui ne paraît pas suffisant pour montrer de manière significative qu'il existe un déclin au sein de ces populations. Malgré des études sur ces taxons réalisées à partir des années 60/70, il semblerait

qu'aucune donnée datant de cette époque ne soit disponible pour le public. Effectivement, les données des échantillonnages réalisés à ce moment-là n'étaient pas entrées dans des bases de données, ce qui rend leur récupération difficile. De plus, les données partagées ne sont pas nécessairement disponibles sous forme brute ; pour beaucoup d'entre elles, les notes des IBGN et I2M2, qualifiant l'état de la masse d'eau où ont eu lieu les prélèvements, sont les seules informations qui peuvent être retrouvées par le public.

Ainsi, le Tableau 5 synthétise les résultats des recherches effectuées sur les données brutes concernant les invertébrés. Les résultats sont classés selon différents critères (types de données, nom sur site internet de l'acteur institutionnel, choix de données par division administrative ou hydrogéographique, informations principales, plage de données, format du fichier lors de son extraction, lien url).

Tableau 5: Sites institutionnels consultés pour la recherche de données brutes invertébrés

Acteur institutionnel	Division administrative ou hydrogéographique	Informations principales	Méthode	Plage	Format	Lien url
NAÏADES → Onglet Hydrobiologie → Lien vers les autres supports → Onglet Macroinvertébrés	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Région/Département</li> <li>• Commune</li> <li>• Bassin versant/Sous bassin</li> <li>• Cours d'eau/ Station</li> </ul>	Nombre d'individus par taxon	IBGN	2011-2016	Fichier CSV Fichier XLS	<a href="http://naiadesv0.eaufrance.fr/donnees">http://naiadesv0.eaufrance.fr/donnees</a>
DREAL ( ex : Normandie) → Eau, Nature, Mer et Littoral → Eau et milieux aquatiques → Laboratoire d'hydrobiologie → Accès aux données brutes invertébrés ou L'I2M2 en Normandie	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Département</li> <li>• Commune</li> <li>• Cours d'eau/Station</li> </ul>	Nombre d'individus par taxon Résultats I2M2	IBGN I2M2	2009-2016	Fichier XLS	<a href="http://www.normandie.developpement-durable.gouv.fr/acces-aux-donnees-brutes-invertebres-a1605.html">http://www.normandie.developpement-durable.gouv.fr/acces-aux-donnees-brutes-invertebres-a1605.html</a> <a href="http://www.normandie.developpement-durable.gouv.fr/l-i2m2-en-normandie-a1606.html">http://www.normandie.developpement-durable.gouv.fr/l-i2m2-en-normandie-a1606.html</a>
DCE – Bassin Loire Bretagne – Etat écologique – Etat biologique – Invertébrés benthiques	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Station</li> <li>• Cours d'eau</li> </ul>	Résultats IBGN	IBGN	2006-2011	Fichier DFB	<a href="https://www.data.gouv.fr/fr/datasets/dce-bassin-loire-bretagne-etat-ecologique-etat-biologique-invertebres-benthiques/#">https://www.data.gouv.fr/fr/datasets/dce-bassin-loire-bretagne-etat-ecologique-etat-biologique-invertebres-benthiques/#</a>
DRIEE Ile de France → Eau et Milieux aquatiques → Données qualité par paramètre hydrobiologique	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Station</li> <li>• Cours d'eau</li> </ul>	Résultats IBGN	IBGN	1994-2013	Fichier XLS	<a href="http://www.driee.ile-de-france.developpement-durable.gouv.fr/donnees-qualite-par-parametre-hydrobiologique-r1073.html">http://www.driee.ile-de-france.developpement-durable.gouv.fr/donnees-qualite-par-parametre-hydrobiologique-r1073.html</a>
AFB	Renvoie sur le site de NAÏADES				<a href="https://www.afbiodiversite.fr/fr/actualites/les-donnees-sur-les-eaux-de-surface-disponibles-en-ligne">https://www.afbiodiversite.fr/fr/actualites/les-donnees-sur-les-eaux-de-surface-disponibles-en-ligne</a>	
CESCO	Aucune donnée disponible (en ligne et suite à la prise de contact avec l'un des membres)				<a href="http://cesco.mnhn.fr/fr">http://cesco.mnhn.fr/fr</a>	
IFREMER environnement	Aucune donnée disponible				<a href="http://www.ifremer.fr/surval2/?fbclid=IwAR2nKZomLwrRarWQvlloW9pYqByOlEPd40aYN-siuglUabF-JObc8Puzhw">http://www.ifremer.fr/surval2/?fbclid=IwAR2nKZomLwrRarWQvlloW9pYqByOlEPd40aYN-siuglUabF-JObc8Puzhw</a>	

La plupart des données disponibles sont issues d'échantillonnages réalisés dans l'objectif de calculer des indices biologiques. Ainsi, pour cette étude, le choix de la technique de prélèvement à employer sera fonction des indices biologiques retenus permettant de définir l'état des masses d'eau. De plus, les données disponibles s'expriment en nombre d'individus par taxon identifié ; il sera donc impossible d'utiliser la biomasse comme réalisé dans les études précédentes sur d'autres groupes taxonomiques, consultées lors des recherches bibliographiques.

Ensuite, afin de pouvoir réaliser une étude visant à établir un lien entre un déclin potentiel des invertébrés et la présence de pesticides, un jeu de données brutes de concentration de pesticides par masses d'eau a été recherché. Dans un premier temps, les mots-clés "données brutes pesticides" ont été examinés sur google et ce sont principalement des données sur la vente des pesticides ([data.gouv.fr](http://data.gouv.fr)) ou encore des données sur les pesticides retrouvées dans d'autres compartiments (eaux souterraines : Captages prioritaires SDAGE, Data Pesticides, NAÏADES Eaufrance, ADES Eaufrance, eaux littorales : IFREMER) qui ont fourni le plus de résultats.

Suite à ces premières investigations, les mots-clés recherchés ont été précisés. Ainsi, les termes "données brutes pesticides eaux de surface" ont été tapés dans la barre de recherche. Cependant, aucun des cinq sites internet prospectés proposant un accès aux données des eaux superficielles (SIERM, QUALIT'EAU Seine Normandie, BASSIN Rhône-Méditerranée) n'a permis d'obtenir des données utilisables pour l'étude. A l'instar des invertébrés, le Tableau 6 synthétise les résultats des recherches effectuées pour les données brutes pesticides.

Tableau 6: Sites institutionnels consultés pour la recherche de données brutes pesticides

Types de données disponibles	Acteur institutionnel	Division administrative ou hydrogéographique	Informations principales	Plage	Format	Lien url
Eaux souterraines	Captages prioritaires SDAGE	Région-bassin	Concentration en ug/L par famille de pesticides	1998-2018	Fichier.xls	<a href="http://sierm.eaurmc.fr/qualiteeaux/captages-prioritaires/index.html">http://sierm.eaurmc.fr/qualiteeaux/captages-prioritaires/index.html</a>
	Data Pesticides	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Station</li> <li>• Département</li> <li>• France</li> </ul>	Concentration en ug/L par famille de pesticides	2007-2014	Carte interactive	<a href="https://www.data.gouv.fr/fr/reuses/data-pesticides/">https://www.data.gouv.fr/fr/reuses/data-pesticides/</a>
	NAÏADES Eaufrance Onglet physico-chimie	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Station</li> <li>• Cours d'eau</li> <li>• Aire hydrogéographique</li> <li>• Commune</li> <li>• Département</li> <li>• Région</li> </ul>	Concentration de pesticides en ug/L Réseau RCS	2010-2018	Fichier csv	<a href="http://www.naiades.eaufrance.fr/acces-donnees#/physicochimie">http://www.naiades.eaufrance.fr/acces-donnees#/physicochimie</a>
	ADES Eaufrance	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Commune</li> <li>• Département</li> <li>• Région</li> </ul>	Concentration de pesticides en ug/L		Carte, Fichier.csv	<a href="http://www.ades.eaufrance.fr/Recherche/Index/Qualitometre?g=625bcd">http://www.ades.eaufrance.fr/Recherche/Index/Qualitometre?g=625bcd</a>
Eaux superficielles	NAÏADES Eaufrance Onglet physico-chimie	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Station</li> </ul>	Somme pesticides totaux en mg/L Uniquement 43 stations réparties de manière hétérogène sur le territoire national	2015-2016	Fichier csv	<a href="http://www.naiades.eaufrance.fr/acces-donnees#/physicochimie">http://www.naiades.eaufrance.fr/acces-donnees#/physicochimie</a>
	Base de données de bassin OSUR	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Région</li> <li>• Départements</li> </ul>	Pesticides cours d'eau		Fichier.csv vide	<a href="http://osur.eau-loire-bretagne.fr/exportosur/action/Export#">http://osur.eau-loire-bretagne.fr/exportosur/action/Export#</a>

	SIERM (Système d'Information sur l'Eau Rhin-Meuse)  (Bassins de la Moselle, de la Sarre et de la Meuse)	• Communes	Pesticides		BUG du système	<a href="http://rhin-meuse.eaufrance.fr/choixtheme?lang=f">http://rhin-meuse.eaufrance.fr/choixtheme?lang=f</a>
	QUALIT'EAU Seine-Normandie (Champagne-Ardenne, Ouest de la Meuse, bassins de la Saulx, de l'Ornain et de l'Aire)	• Communes	Mesure de la qualité de l'eau ( $O_2$ dissous, $NO_3^-$ , $NO_2^-$ , P, $PO_4^{3-}$ ) mais absence de données pesticides	2014 - 2018	Fichier.xls	<a href="http://qualiteau.eau-seine-normandie.fr;brut/commune/init.do">http://qualiteau.eau-seine-normandie.fr;brut/commune/init.do</a>
	BASSIN Rhône-Méditerranée (Sud des Vosges, bassin de la Saône)  EAUFRANCE	• Région • Département • Commune • Bassin versant • Sous bassin/SDAGE • Cours d'eau	Mesure de la qualité de l'eau ( $O_2$ dissous, $NO_3^-$ , $NO_2^-$ , P, $PO_4^{3-}$ ) mais absence de données pesticides		Fichier.xls	<a href="http://sierm.eaurmc.fr/surveillance/eaux-superficielles/index.php">http://sierm.eaurmc.fr/surveillance/eaux-superficielles/index.php</a>
Eaux littorales	IFREMER	• France • Région	Contaminants chimiques - Autres organiques		Carte absence de valeur	
Ventes de pesticides	• Extrait de la « Banque Nationale des Ventes réalisées par les Distributeurs des produits phytopharmaceutiques » (BNV-D)»		• Nom du produit commercial • Quantité produits • Substance • Quantité (kg) • Distributeurs concernés	2015-2017	Fichier.xls	<a href="https://www.data.gouv.fr/fr/datasets/donnees-de-vente-de-pesticides-par-departement/#_">https://www.data.gouv.fr/fr/datasets/donnees-de-vente-de-pesticides-par-departement/#_</a>

## 1.4 Synthèse

Ainsi, deux types de données brutes ont été examinés sur les sites officiels des acteurs institutionnels de l'eau : les invertébrés et les pesticides des eaux de surface. A l'issue de ce travail, seules des données brutes d'invertébrés datant de 2006, disponibles sur Naïades-Eaufrance ont été recueillies. La nature trop récente de ces données compromet l'évaluation d'un déclin de la densité d'invertébrés aquatiques depuis les années 1970. A cela s'ajoute l'absence complète de données brutes de pesticides, rendant toute la seconde partie de l'étude impossible (Figure 3). Ces éléments conduisent donc à une adaptation de la problématique initiale ; l'objectif final de cette étude sera d'établir une méthode adéquate pour permettre de répondre à la problématique initiale : existe-t-il un déclin du peuplement d'invertébrés ? Et dans le cas d'une réponse positive, ce déclin est-il lié à l'utilisation des pesticides ?

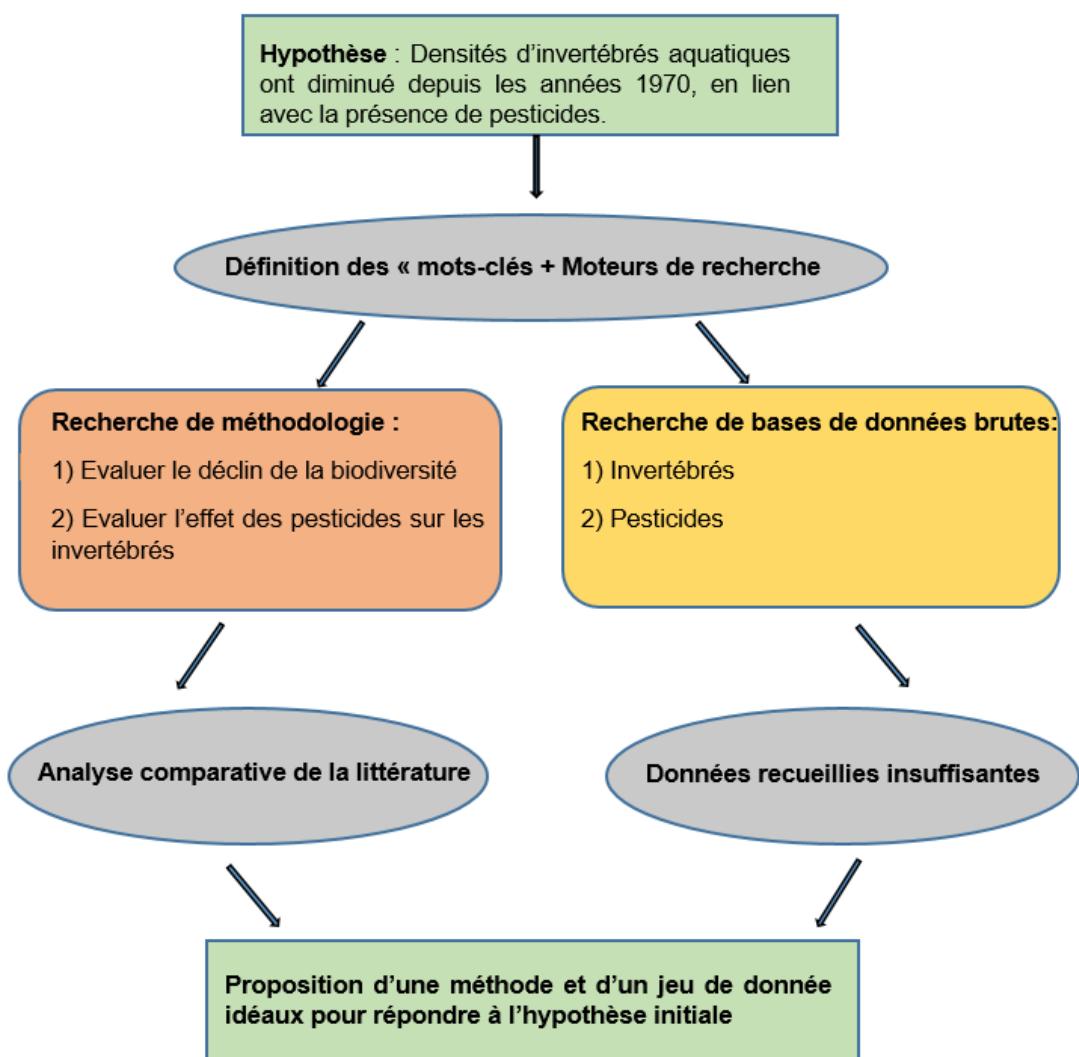


Figure 3: Schéma du processus d'adaptation de la problématique initiale

## 2. Proposition de méthodologie

### 2.1 Etude de l'évolution des populations d'invertébrés aquatiques

#### 2.1.1 Les outils

Pour évaluer la qualité des eaux courantes, les peuplements de macroinvertébrés benthiques constituent un élément possible d'analyse. C'est pour cela que depuis 1967, il existe en France des indices biologiques basés sur ces peuplements contribuant à l'étude de la qualité des masses d'eau, indices qui ont évolué au cours du temps (Tableau 7). Ils impliquent chacun une méthode précise d'échantillonnage et les comparer pourrait s'avérer utile dans la suite de cette étude. Effectivement, pour obtenir des résultats fiables, il est indispensable de mettre en place une méthode d'échantillonnage standardisée ou de récolter des données issues de méthodes permettant la comparaison des données entre elles. De plus, les données qu'il est possible de se procurer concernant les invertébrés aquatiques sont uniquement issues des échantillonnages réalisés spécialement pour le calcul de ces indices et plus particulièrement l'IBGN et l'I2M2. Ainsi, la suite de cette partie consistera à développer le principe de ces deux indices, à mettre en évidence leurs limites et à les comparer pour savoir s'il est possible de mettre en lien les données issues de leurs méthodes d'échantillonnage pour pouvoir les utiliser dans le cadre d'une étude de l'évolution des populations.

Tableau 7 : Indices basés sur l'analyse des peuplements de macroinvertébrés; Source : IBGN Guide technique, Agence de l'eau (2e édition)

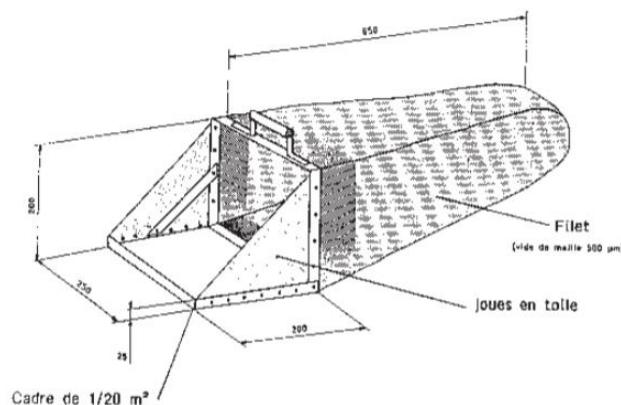
	Indice Biotique	Indice de Qualité Biologique Globale	Indice Biologique Global	
	Ib 1967	IQBG 1976	IBG expérimental 1985	I.B.G.N. 1992
Échantillonnage	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 3 prélèvements en faciès lotique (courant)</li> <li>• 3 prélèvements en faciès lentique (calme)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 6 prélèvements effectués en fonction de couples granulométrie/ vitesse de courant, repérés par ordre d'habitabilité</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 8 prélèvements en fonction de couples granulo-végétation/vitesse de courant, repérés par ordre d'habitabilité</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Idem I.B.G. Modification de l'ordre des supports dans le protocole d'échantillonnage</li> </ul>
Matériel	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Surber 1/10 m<sup>2</sup> (courant)</li> <li>• drague ou filet troubleau (calme)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Idem Ib</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Surber (1/20 m<sup>2</sup>) transformable en haveneau (courant + calme)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Idem I.B.G. exp.</li> </ul>
Identification taxonomique	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Unité systématique (U.S) variable selon les groupes (ordre, classe, famille ou genre)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Idem Ib mais mieux adapté aux connaissances taxonomiques</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Unité taxonomique très généralement la famille (sauf exception)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Idem I.B.G. exp.</li> </ul>
Méthode de détermination de l'indice	<p>Tableau :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 7 groupes faunistiques repères (= 16 indicateurs) subdivisés en 2 selon le nombre d'U.S. représentées</li> </ul> <p>- 5 classes de variété taxonomique (nbre d'U.S.) avec limite inf. de la classe maxi à 16 U.S.</p>	<p>Tableau :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 8 groupes faunistiques repères (= 25 indicateurs) subdivisés en 2 selon le nombre d'U.S.</li> </ul> <p>- Idem Ib, avec limite inf. de la classe maxi à 31 U.S.</p>	<p>Tableau :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 8 groupes faunistiques repères non subdivisés (= 38 indicateurs)</li> </ul> <p>- 12 classes de variété taxonomique avec limite inf. de la classe maxi à 40 U.S., et répertoire de 135 taxons pris en compte</p>	<p>Tableau ajusté :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Déplacement de taxons indicateurs</li> </ul> <p>- 14 classes de variété avec limite inférieure de la classe maxi à 50 U.S. et répertoire de 138 taxons</p>
Seuil de représentativité (= nombre mini. d'individus nécessaire pour la prise en compte du taxon )	2	2	1 pour la variété taxonomique, 3 pour les taxons indicateurs	1 pour la variété taxonomique, 3 ou 10 pour les taxons indicateurs
Notation	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ind. biotique lotique <math>Ibc/10</math></li> <li>• Ind. biotique lentique <math>Ibl/10</math></li> <li>• Ind. biotique moyen <math>Ib/10 = \frac{Ibc + Ibl}{2}</math></li> </ul>	Indice / 20	Indice global / 20	Indice global / 20

L'échantillonnage des invertébrés aquatiques est défini suivant la norme AFNOR T 90-350 (Terrasson, 2004). Il doit se faire sur un cours d'eau n'excédant pas un mètre de profondeur et se constitue de 8 prélèvements réalisés sur différents substrats définis selon l'ordre établi par la norme Tableau 8. Celui-ci peut avoir lieu à n'importe quelle période de l'année si le débit de la masse d'eau en question est stabilisé depuis au moins 10 jours.

*Tableau 8 : Types de substrats à échantillonner pour le calcul de l'IBGN ; Source : L'indice Biologique Global Normalisé français (IBGN, Norme AFNOR NF T90-350, 2004) : ses principes et son évolution dans le cadre de la Directive Cadre Européenne sur l'Eau*

Type de substrat
(9) Bryophytes
(8) Spermaphytes immergées
(7) Eléments organiques grossiers (litières, branchages, racines)
(6) Sédiments minéraux de grande taille (pierres, galets) de diamètre compris entre 250 mm et 25 mm
(5) Granulats grossiers de diamètre compris entre 25 mm et 2,5 mm
(4) Spermaphytes émergeant de la strate basse
(3) Sédiments fins organiques, vases, de diamètre inférieur à 0,1 mm
(2) Sables et limons de diamètre inférieur à 2,5 mm
(1) Surfaces naturelles et artificielles (roches, dalles, sols, parois), blocs de diamètre supérieur à 250 mm
(0) Algues ou à défaut marnes et argiles

A l'aide d'un filet de type Surber (Figure 4) de vide maille de 500 µm et d'une surface de 1/20ème de mètre carré, les invertébrés sont récupérés dans la masse d'eau. L'ordre des habitats choisis pour l'échantillonnage priviliege l'habitabilité du substrat et prend en compte la vitesse du courant.



*Figure 4: Filet de type Surber; Source : IBGN Guide technique, Agence de l'eau (2e édition)*

Suite à ces prélèvements, les individus sont ensuite identifiés au niveau de la famille, à l'exception des Oligochètes, Némathelminthes, Hydracariens, Hydrozoaires, Spongiaires, Bryozoaires et Némertiens qui restent identifiés à ce niveau taxonomique.

Cette identification donne ensuite lieu à l'attribution d'une note en fonction des taxons retrouvés. Parmi les 152 taxons listés pour l'élaboration de l'IBGN seuls 38 sont définis comme étant des groupes indicateurs et donc participent réellement au calcul de la note (EMAED). La détermination de cette note se base sur deux éléments :

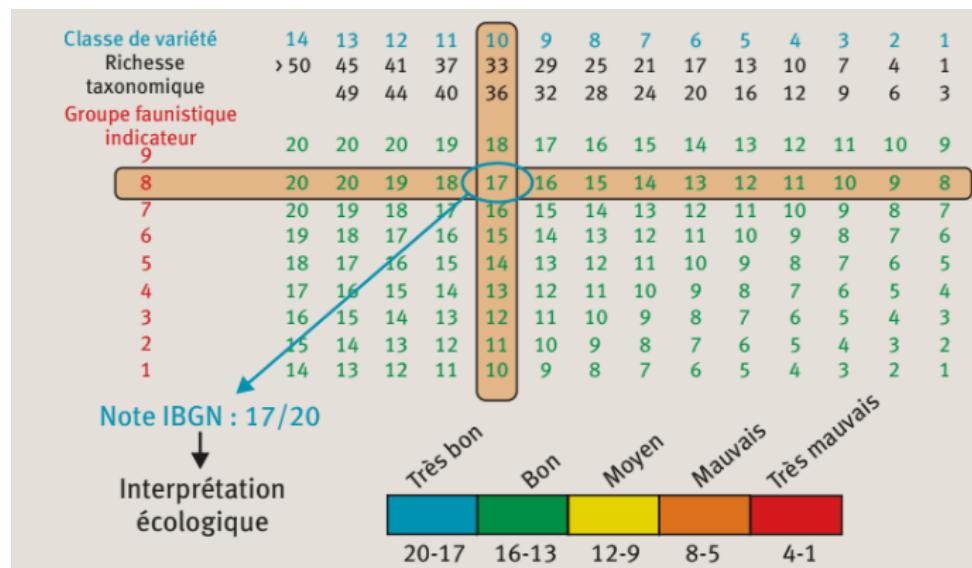
- La variété taxonomique de l'échantillon qui correspond au nombre total de taxons récoltés même si ceux-ci ne sont représentés que par un unique individu.

- Le groupe faunistique indicateur qui prend en compte uniquement les taxons indicateurs représentés par un nombre minimal d'individus (entre 3 et 10 selon les taxons).

A partir de ces éléments deux méthodes permettent de déterminer la note de l'indice, soit par utilisation du tableau en croisant ces éléments Tableau 9 ou par le calcul selon la formule suivante (Guide technique IBGN) :

$$IBGN = N^{\circ} \text{Groupe faunistique indicateur} + (N^{\circ} \text{Classe de variété} - 1)$$

Tableau 9: Détermination de la note IBGN ; Source : L'indice biologique global normalisé (IBGN) : principes et évolution dans le cadre de la directive cadre européenne sur l'eau.



La valeur de l'indice ainsi obtenue correspond à un état écologique de la masse d'eau. Plus la valeur est élevée, plus la qualité du cours d'eau étudié est bonne.

Afin de répondre au mieux aux exigences de la DCE, l'IBGN a subi des modifications pour être remplacé officiellement en 2016 par l'I2M2. Le principe d'échantillonnage pour pouvoir calculer cet indice est sensiblement le même que pour l'échantillonnage de l'IBGN. En effet, un filet de type Surber est également employé au cours de ce processus et ce ne sont pas 8 prélèvements qui sont réalisés au sein de la masse d'eau étudiée mais 12.

L'I2M2 présente néanmoins une différence majeure avec son prédecesseur : il prend en compte dans sa conception pas moins d'une dizaine de catégories de pressions étroitement liées à la qualité physico-chimique du cours d'eau concerné, ainsi que 7 types de pression relatifs à l'hydromorphologie et/ou l'occupation du sol (Mondy et al., 2011).

Tableau 10: Types de pression pris en compte par l'I2M2 (Pouvreau, 2015)

Physico-chimie	Hydromorphologie
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Matières organiques oxydables</li> <li>➤ Matières azotées</li> <li>➤ Nitrates</li> <li>➤ Matières phosphorées</li> <li>➤ Matières en suspension</li> <li>➤ Acidification</li> <li>➤ Métaux</li> <li>➤ Pesticides</li> <li>➤ Hydrocarbures aromatiques polycycliques</li> <li>➤ Micropolluants organiques</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Voies de communication</li> <li>➤ Ripisylve</li> <li>➤ Intensité d'urbanisation</li> <li>➤ Risque de colmatage</li> <li>➤ Instabilité hydrologique</li> <li>➤ Niveau de rectification</li> <li>➤ Niveau d'anthropisation du bassin versant</li> </ul>

De plus, la méthode de calcul de cet indice prend en compte 5 métriques complémentaires qui s'expriment chacune sous forme d'EQR ; l'EQR correspondant à une valeur comprise entre 0 et 1 exprimant la différence entre l'état de référence et l'état observé, sachant que la valeur 0 correspond à une forte pression anthropique. Cette valeur est ensuite reprise dans le calcul de l'I2M2. Ainsi, les métriques prises en compte dans l'élaboration de la note de cet indice sont les suivantes :

- L'indice de Shannon Weaver : indice permettant de mesurer l'hétérogénéité et la stabilité de l'habitat à partir de la richesse taxonomique ainsi que la répartition des abondances relatives des différents taxons de la liste (Notice explicative et éléments de vocabulaire).
- L'indice ASPT : score caractérisant la sensibilité moyenne d'une population d'invertébrés face à une pollution (Notice explicative et éléments de vocabulaire).
- La fréquence des taxons polyvoltins : fréquence relative des taxons pouvant réaliser à minima deux générations sur une année (Notice explicative et éléments de vocabulaire).
- La fréquence relative des taxons ovovivipares : fréquence relative des taxons dont l'incubation des œufs a lieu dans l'abdomen de la femelle (Notice explicative et éléments de vocabulaire).
- La richesse taxonomique : nombre total de taxons ayant été identifiés au degré systématique défini par la norme XP T90-388 (Notice explicative et éléments de vocabulaire).

Suite à l'obtention des valeurs d'EQR de chacune des métriques, des sous-indices nommés i2m2 pressure sont calculés pour chaque catégorie de pression, selon la formule suivante :

$$i2m2^{pressure} = \frac{\sum(DE^{pressure} \times EQR^{pressure})}{\sum(DE^{pressure})}$$

Avec DE : le pouvoir de discrimination de la métrique pour le type de pression considéré.

La note globale de l'I2M2 est ensuite établie à partir des sous-indices préalablement calculés pour chacune des 17 catégories de pression, à partir de la formule suivante :

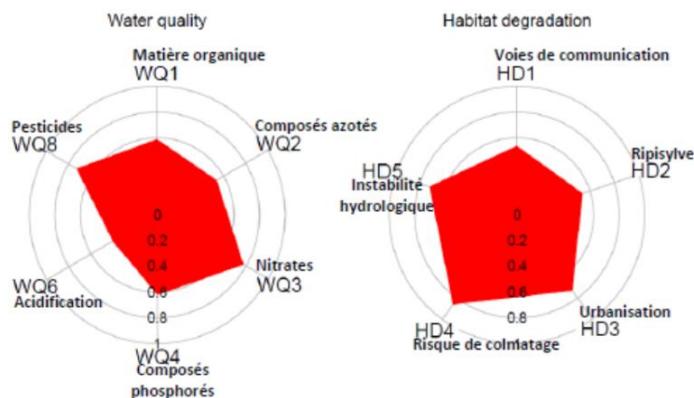
$$I2M2 = \frac{\sum_{17}(i2m2^{pressure})}{17}$$

Contrairement à l'IBGN, la note obtenue est une valeur comprise entre 0 et 1 (Tableau 11) montrant la qualité de l'habitat en fonction des différences qu'il présente avec un état de référence.

*Tableau 11: Interprétation écologique de la note I2M2; Source : LABOCEA*

Très bon	Bon	Moyen	Médiocre	Mauvais
0,665	0,443	0,295	0,148	0,000

Ensuite l'I2M2 permet, à travers son outil diagnostic, d'établir des diagrammes donnant avec précision les éléments participant à la dégradation de l'état du cours d'eau d'étude (Figure 5).



*Figure 5: Exemple de diagrammes pouvant être obtenus par l'outil diagnostic de l'I2M2 ; Source : (Pouvreau, 2015)*

### 2.1.2 Intérêt et limite de ces outils, liens entre eux

Suite à la présentation de ces deux indices, il est possible de mettre en avant des similitudes quant aux techniques d'échantillonnage et d'identification. Cependant, des différences majeures peuvent être remarquées quant à la méthode de calcul de chacun de ces indices. Tous ces éléments de comparaison sont repris dans le tableau suivant :

Tableau 12: Comparaison entre l'IBGN et l'I2M2

	<i>IBGN</i>	<i>I2M2</i>
<b>Echantillonnage</b>	Prélèvements au Surber 1/20m <sup>2</sup> et maille 500 µm	
	Nombre de prélèvements : 8  Dans les couples substrat/vitesse les plus distincts en privilégiant l'habitabilité	Nombre de prélèvements : 12  Selon 3 phases : - Substrats marginaux - Substrats dominants par ordre d'habitabilité - Substrats dominants par ordre de représentativité
<b>Identification des taxons</b>	A la famille	Au genre
<b>Calcul de l'indice</b>	Calcul à partir du groupe faunistique et de la classe de variété	Calcul à partir de 5 métriques : indice de Shannon, ASPT, richesse taxonomique, fréquence des taxons polyvoltins, fréquence relative des taxons ovovivipares

En effet, les techniques d'échantillonnage et d'identification utilisées pour établir ces indices sont sensiblement les mêmes. Ainsi, les types de données obtenues peuvent être légèrement modifiées, notamment pour correspondre au même niveau taxonomique, et donc être comparables entre elles. De plus, certains sites consultés au cours des recherches de données, comme les DREAL, partagent des notes IBGN converties plus tard en I2M2. Effectivement, l'IBGN est convertible en I2M2 à l'aide du script R dans sa version mise en ligne sur le site du SEEE au 1er avril 2016. En somme, il est possible de prendre en compte des données récoltées et employées pour le calcul de chacun de ces indices dans le cadre d'une étude des populations d'invertébrés.

Ces méthodes présentent cependant quelques limites. Effectivement, concernant l'IBGN, celui-ci n'est pas applicable aux cours d'eau dont la profondeur dépasse le mètre, ni aux zones de sources présentant une faune spécifique. De plus, cet indice est fortement dépendant des cycles biologiques des espèces résidant au sein de la zone d'étude. De ce fait, l'utilisation de l'IBGN ne permet pas la différenciation entre une modification de l'environnement et les variabilités saisonnières. En somme, il est difficile de déterminer la nature exacte des perturbations que subissent des populations de macroinvertébrés (Guide technique IBGN).

Quant à l'I2M2, il est soumis aux mêmes contraintes d'échantillonnage que l'IBGN. En outre, il indique la probabilité d'impact sur la population d'invertébrés d'une masse d'eau par un ou différents types de pression. Les résultats sont donc à considérer avec précaution puisqu'ils n'attestent pas de l'existence réelle de ces pressions.

### 2.1.3 Utilisation des données disponibles

D'après le tableau présenté dans la partie "1.2. L'acquisition des données", seul le site NAÏADES et ceux des DREAL permettent de consulter et d'acquérir les données brutes issues de l'élaboration des indices précédemment évoqués. Ainsi, seules ces données sont utilisables dans le cadre d'une étude telle que celle prévue. Néanmoins, au vu de la courte durée de la période renseignée, il est nécessaire qu'elles soient complétées par d'autres échantillonnages. Pour se faire, il est essentiel que ceux-ci aient lieu, selon la zone étudiée, sur les stations des précédents prélèvements réalisés en vue de calculer les indices biologiques ; afin de pouvoir comparer les peuplements au fil du temps. Le recueil des invertébrés devra se faire en suivant strictement le protocole de l'I2M2 ; c'est-à-dire 12 prélèvements réalisés à l'aide d'un filet de Surber.

## 2.2 Etude de l'effet des pesticides sur les invertébrés aquatiques par la méthode SPEARpesticides

### 2.2.1 Un indicateur basé sur les traits écologiques

L'assemblage d'espèces dans les communautés d'invertébrés aquatiques dépend de l'ensemble des facteurs biotiques et abiotiques s'appliquant au milieu. A cela s'ajoute le fait que ces facteurs étant extrêmement variables dans l'espace et dans le temps, les communautés retrouvées dans le milieu aquatique sont différentes en fonction du site étudié et de la période d'échantillonnage, ce qui augmente considérablement la complexité, surtout lorsqu'on souhaite réaliser des études de terrain à grande échelle avec plusieurs stations géographiquement éloignées.

L'ensemble des facteurs environnementaux agit comme un « filtre » et sélectionne des espèces ayant des traits biologiques adaptés (Figure 6). La proportion des différents traits biologiques semble assez stable à l'échelle des cours d'eau d'Europe les moins pollués (Statzner et al 2004). Les facteurs de stress tel que les pesticides influent sur certaines caractéristiques biologiques des espèces et donc, il devient possible d'effectuer des liens entre les concentrations de pesticides et une altération des traits biologiques de la communauté.

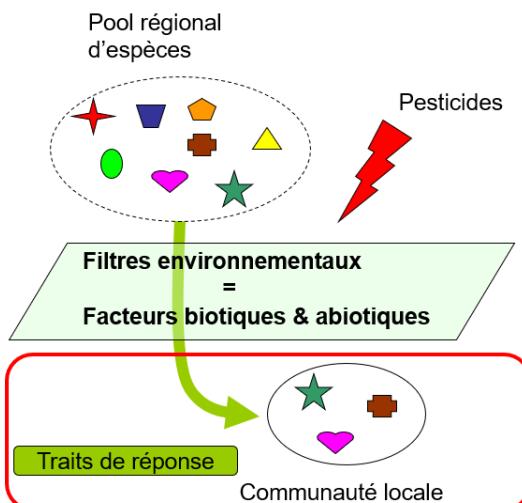


Figure 6: Explication du concept de filtres environnementaux d'après Caquet et al., 2011 modifié

En effet, lorsque la composition de la communauté est décrite en termes de traits d'espèce, les effets des pesticides ne peuvent plus être masqués par les faux positifs. Dans l'idéal, les caractéristiques des espèces associées aux pesticides seraient indépendantes des autres paramètres environnementaux et seraient uniquement influencées par le degré de stress causé par les pesticides.

Les traits biologiques pouvant être reliés à des paramètres d'habitat ont initialement été proposés par Townsend et Hildrew en 1994 : la taille du corps, le temps de génération, les tactiques de reproduction, la forme du corps, la mobilité, le potentiel de régénération/recolonisation.

En 2005, (Liess et Carsten Von Der Ohe 2005) ont retenus trois traits biologiques qui ont permis avec succès d'évaluer l'effet des pesticides sur la communauté de macroinvertébrés étudiées via la création de la méthode SPEARpesticides.

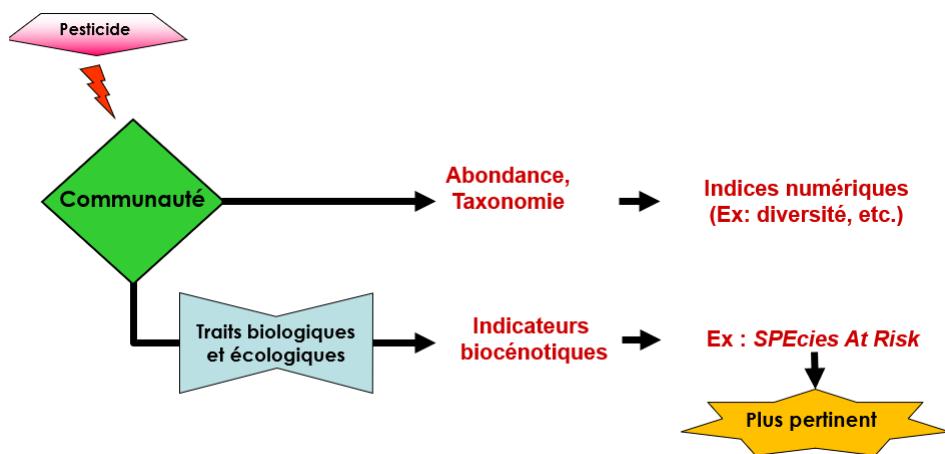


Figure 7: Mise en évidence de l'intérêt de la création d'une nouvelle approche plus intégrative d'après Caquet et al., 2011

Cette méthode est basée sur les traits biologiques et écologiques des espèces (Figure 7), ce qui lui confère l'avantage de pouvoir s'appliquer à n'importe quelle région biogéographique en Europe. En effet, cet indicateur de biosurveillance SPECies At Risk est applicable de manière flexible dans différentes zones climatiques et est relativement indépendant des facteurs de stress environnementaux supplémentaires (Liess et al 2008).

Elle est utilisée dans de nombreux articles d'écotoxicologie (ANNEXE n°2) afin de montrer le lien entre le niveau d'exposition aux pesticides et la structure de la communauté des invertébrés (Liess et Carsten Von Der Ohe, 2005 ; Beketov et Liess, 2008 ; Rassmussen et al, 2013 ; Scafer et al., 2012 ; Schletter et al., 2010 ; Liess et Beletov, 2011).

L'approche est fondée sur la sensibilité des espèces aux substances toxiques organiques en fonction de leurs caractéristiques de cycle de vie et de leurs capacités de résilience. Les espèces sont classées "espèces en péril" (SPEAR) soit "espèces qui ne sont pas en péril" (notSPEAR).

En plus de la sensibilité des taxons aux substances toxiques organiques, trois caractéristiques écologiques sont étudiées au moment de l'application maximale de pesticides (Figure 8) :

- Le temps de génération
- La capacité de migration
- La présence de stades aquatiques

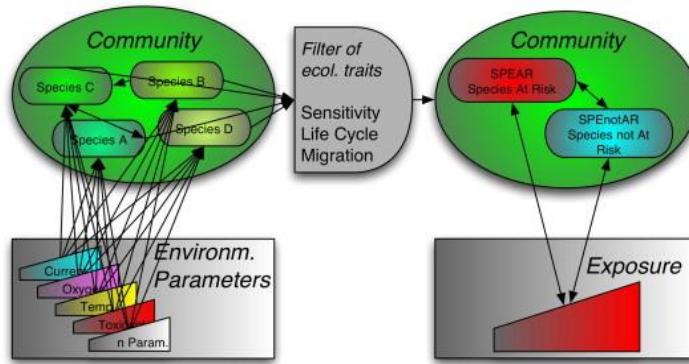


Figure 8: Schéma de principe du concept SPEAR pesticides Source: Wikipédia

Les substances toxiques modifient la composition des communautés : plus l'exposition aux substances toxiques est élevée, plus la proportion d'espèces sensibles (espèces en péril) est faible. Ainsi, un taxon est considéré comme une "espèce en péril" s'il possède : (i) un temps de génération égal ou supérieur à six mois ; (ii) des capacités de migration faibles ; (iii) des stades aquatiques en mai-juin ; et ; (iv) une valeur de sensibilité aux substances toxiques organiques ( $S_{organique}$ ) supérieure à -0,36 (Liess et Carsten Von Der Ohe 2005) calculée d'après la formule suivante :

$$S = \log \frac{LC50D.magna}{LC50Taxon_i}$$

Le schéma de la Figure 9 suivante reprend les principes de classification des taxons.

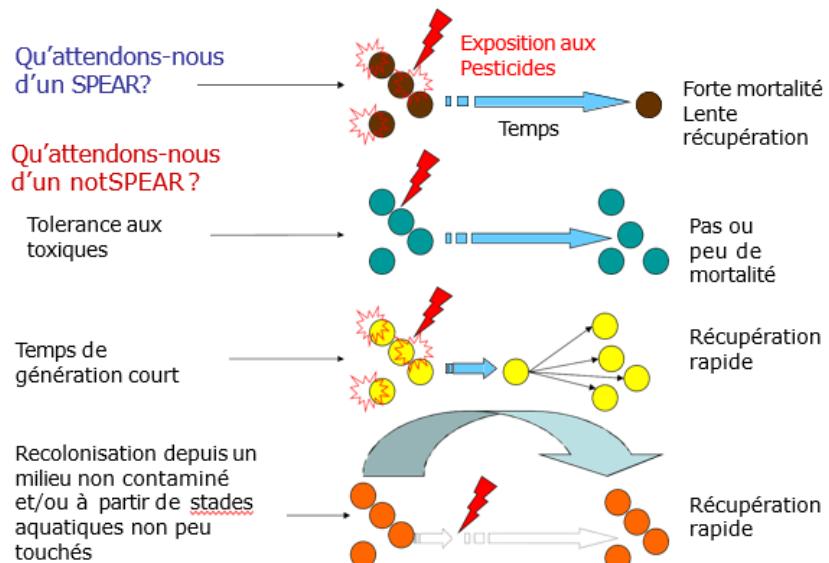


Figure 9: Principes de classifications des taxons en SPEAR ou notSPEAR d'après Roucaute et al., 2011 modifié

Afin d'adapter la base de données SPEAR au niveau de résolution taxonomique utilisé par les indices biologiques de l'IBGN et l'I2M2, des définitions SPEAR au niveau de la famille (famille en péril -1 ou non -0) ont été réalisée à partir des données existantes pour chaque espèce incluse dans la base de données. Ces définitions ont été calculées en fonction de la majorité des espèces de la famille (plus de 50 %). Par conséquent, toutes les espèces d'une même famille ont la même caractérisation SPEAR à ce niveau pour une région biogéographique particulière. Ainsi, sur la base des espèces, la caractérisation des "familles en péril" est effectuée automatiquement par l'algorithme de la base de données.

Au total, 152 familles sont répertoriées dont 66 familles à risque et 83 non à risque (extrait de la liste en ANNEXE n°3). En plus des caractéristiques écologiques précédentes, la base de données contient d'autres informations (type d'espèce, répartition géographique, synonymes des noms d'espèces et de genres, de la taille du corps des stades aquatiques). La méthode est adaptée à chaque pays et aux différences régionales spécifiques qui ont été constatées pour certaines espèces. Sinon, les taxons sont considérés comme universels et marqués "UNI". Le logiciel SPEAR est disponible à l'adresse suivante : <http://www.systemecology.eu/indicate/>.

La valeur SPEAR des sites échantillonnés est calculée comme étant l'abondance relative des espèces sensibles :

$$SPEAR = \frac{\sum_{i=1}^n \log(x_i + 1) y}{\sum_{i=1}^n \log(x_i + 1)}$$

Avec n = nombre de taxons,

$x_i$  = l'abondance du taxon i,

$y$  = 1 si le taxon est classé comme sensible (ex : Perlodidae, Taeniopterygidae) et  $y = 0$  si le taxon est classé comme insensible (ex : Astacidae, Chironomidae)

## 2.2.2 Faisabilité d'utilisation, intérêt et limite

D'après le tableau présenté dans la partie "1.2. L'acquisition des données", aucun des cinq sites internet prospectés proposant un accès aux données des eaux superficielles (SIERM, QUALIT'EAU Seine Normandie, BASSIN Rhône-Méditerranée) n'a permis d'obtenir des données utilisables pour l'étude. Pour mettre en relation l'abondance SPEARpesticides avec la concentration de pesticides par apport de ruissellement, il nécessaire de collecter les données de concentrations des pesticides par échantillonnage.

Même si idéalement, les caractéristiques des espèces de la méthode SPEARpesticides seraient indépendantes des autres paramètres environnementaux et seraient uniquement influencées par le degré de stress causé par les pesticides, il serait néanmoins peut-être plus prudent d'essayer d'éviter qu'aucune autre pollution ne vienne perturber les résultats. En effet, cette méthode exclut en théorie d'autres pressions pouvant perturber les résultats en constituant la cause réelle d'un effet observé sur les communautés d'invertébrés. En outre, les sites d'échantillonnage doivent donc, si possible, ne comporter aucune période d'assèchement, usine, industrie ou station d'épuration à proximité ; seule, l'activité agricole doit y être présente (Hallmann et al., 2017). L'apport de pesticides par ruissellement serait idéalement mesuré lors de la période où les concentrations observées dans les eaux sont maximales : avril, mai, juin (Mouchel 2002).

Parmi les techniques de mesure de la concentration des pesticides dans les eaux utilisées en routine par les réseaux de surveillance. On distingue deux types de prélèvement “classiques” :

- Prélèvement ponctuel : il mesure la dose de contaminants d'un échantillon prélevé à un endroit et à un instant donné
- Prélèvement moyen : il collecte un échantillon à intervalle de temps régulier. Il restitue à la fin de la semaine un niveau moyen de contamination.

Mais ces deux techniques fastidieuses à mettre en place, ne parviennent pas à évaluer des niveaux de contaminations faibles d'un milieu sur un temps long. En effet, l'échantillonnage ponctuel donne des résultats incertains car ce mode d'échantillonnage peut tout aussi bien surévaluer ou sous évaluer la concentration sur la période de suivi, selon le moment exact du prélèvement. L'échantillonnage moyen permet d'obtenir respectivement une bonne représentativité de la concentration moyenne sauf dans le cas où le débit est variable (Liger et al 2012). Pour ces raisons, ces deux techniques ne constituent pas les méthodes idéales à mettre en place dans le cadre de notre étude.

En effet, l'apport de pesticides au cours d'eau par ruissellement peut-être extrêmement variable en fonction du moment de l'année. De plus, il semblerait préférable d'effectuer la mesure de la concentration des pesticides durant 2 années consécutives sur une vingtaine de stations (cf. Tableau 13 : Études de terrain ayant conclu à l'existence d'un lien certain entre la présence de pesticides (apports par ruissellement, sauf indication contraire) par utilisation de la méthode SPEARpesticides) pour application de la méthode SPEAR pesticides.

Ce seront donc des échantilleurs passifs qui seront préférés pour la réalisation de cette étude. Ils concentrent les polluants même à l'état de trace et révèlent ainsi le vrai cocktail de polluants présents dans l'eau. Münze et al. 2017 ont utilisés ce type d'échantilleur dans le cadre de leur étude visant à prouver que les pesticides provenant des effluents des usines de traitement des eaux usées affectent les communautés d'invertébrés.

Concernant les intérêts et limites, il est intéressant de noter que cette méthode SPEARpesticides est encore toujours en cours d'élaboration et de validation par les chercheurs et n'est toujours pas utilisée par les acteurs institutionnels de l'eau dans le cadre de la DCE notamment.

En effet, les scientifiques se questionnent toujours à propos de certaines métriques environnementales : échelle de sensibilité, effets d'autres facteurs du milieu ou même encore sur le choix des traits (Caquet et al 2011) avec une meilleure prise en compte de la saisonnalité, notamment.

Enfin, la méthode SPEAR étant spécifique aux systèmes lotiques, une adaptation de la méthode aux écosystèmes stagnants a été débutée récemment et soulève encore beaucoup d'interrogations (Roucaute et al 2011).

### 3. Mise en lien de l'évolution des populations d'invertébrés aquatiques avec l'impact des pesticides

#### 3.1 Mise en évidence d'un déclin potentiel

En premier temps, les données concernant les invertébrés aquatiques seront traitées en vue d'étudier la fluctuation des peuplements au cours du temps. Pour cela, le temps (variable explicative, Y) doit être mis en corrélation avec le nombre d'individus d'un taxon (variable expliquée, X).

Pour se faire, il est nécessaire que les variables soient indépendantes et suivent une Loi Normale. Si la loi n'est pas respectée, il est possible d'améliorer leur distribution en appliquant la fonction Log10. Il faut ensuite représenter graphiquement les données sous forme d'un nuage de points et procéder à un ajustement du modèle ; c'est-à-dire d'estimer les coefficients de la droite affine ( $aX + b$ ) représentative de la distribution de ces point par la méthode des moindres carrés. Ces coefficients sont alors déterminés de la manière suivante :

$$a = \frac{\text{Cov}(X,Y)}{\text{Var}(X)} \text{ Avec Cov la covariance et Var la variance}$$

$$b = \bar{Y} - a\bar{X}$$

Puis, pour chaque valeur de X, l'écart entre la valeur de Y observée et la valeur prédictive  $\hat{Y}$  par la droite sera calculé et nommé résidu. La somme des carrés de ces résidus est ensuite notée SCR. La valeur SCE est également calculée :

$$SCE = \sum_{i=1}^n (Y'_i - \bar{Y})^2$$

Le calcul de ces deux éléments permet de déterminer SCT, la variation totale des observations :

$$SCT = SCR + SCE$$

Il est alors possible d'obtenir le carré du coefficient de corrélation  $R^2$ , le coefficient de détermination, en appliquant la formule suivante :

$$R^2 = \frac{SCE}{SCT}$$

La valeur de ce coefficient permet d'apprécier la qualité de l'ajustement linéaire : si sa valeur est de 0, le modèle ne permet pas de déterminer la distribution réelle des points ; inversement plus sa valeur se rapproche de 1 plus le modèle est fiable. En appliquant la fonction racine à ce coefficient, la valeur du coefficient de corrélation est alors obtenue Tableau 13. Si celui-ci est proche de 1 ou -1, les

variables sont alors qualifiées comme fortement corrélées. A l'inverse, si la valeur du coefficient est égale à 0, alors les variables ne sont pas corrélées.

Tableau 13: Interprétation de la valeur du coefficient de corrélation

Type de corrélation	Négative	Positive
Faible	-0,5 à 0	0 à 0,5
Forte	-1 à -0,5	0,5 à 1

L'étape suivante consiste à tester la significativité du modèle à l'aide d'un test de Fisher en émettant les hypothèses suivantes :

- H0 : le modèle établi n'est pas significatif
- H1 : le modèle établi est significatif

Ainsi F est défini de la manière suivante :

$$F = \frac{SCE/1}{SCR/(n-2)}$$

La valeur est alors comparée à la table de Fisher (ANNEXE n°4) en fonction du degré de liberté calculé et le pourcentage du risque d'erreur choisi ; permettant ainsi de rejeter ou non les hypothèses de significativité précédemment formulées. Si H1 est retenue alors le modèle sera significatif.

Enfin, il est indispensable de connaître l'intervalle de confiance dans lequel s'inscrit le modèle défini. Il est possible de calculer 3 intervalles de confiance pour ce modèle :

- L'intervalle du coefficient a au niveau  $1-\alpha$  (1)
- L'intervalle du coefficient b au niveau  $1-\alpha$  (2)
- L'intervalle de confiance de la droite de régression niveau  $1-\alpha$  (3)

Ces intervalles sont définis par les équations suivantes :

$$(1) [a' - t\sigma_a'; a' + t\sigma_a']$$

$$(2) [b' - t\sigma_b'; b' + t\sigma_b']$$

$$(3) \left[ Y' - t\sigma' \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{(X-\bar{X})^2}{\sum(X-\bar{X})^2}}, Y' + t\sigma' \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{(X-\bar{X})^2}{\sum(X-\bar{X})^2}} \right]$$

Avec t le quantile de niveau  $(1-\alpha)/2$  d'une loi de Student n-2.

### 3.2 Mise en évidence de la relation pression toxique et SPEAR

Il est intéressant d'effectuer un lien entre la note SPEARpesticides et la concentration de pesticides mesurée par échantillonnage passif, cette dernière étant retranscrite en Unités Toxiques UT.

Par définition, une unité toxique pour un composé donné est basée sur la concentration à laquelle il existe un effet de 50% (ex. CE50) pour un certain critère biologique. Une unité toxique est égale à la CE50 pour un paramètre donné pour un effet biologique spécifique sur une période donnée.

Comme présenté par Liess et Von Der Ohe dans leur étude en 2005, le nombre d'UT est calculé à partir des concentrations maximales des n pesticides mesurées à chaque station :

$$UT_{i,j,t} = \max_{i=1}^n \log\left(\frac{C_{i,t}}{CE50_{i,j}}\right)$$

Avec i= substance considérée

j= espèce de référence *Daphnia magna*

t= date de mesure

La réalisation d'un graphique avec UT comme variable indépendante X et la note d'abondance SPEARpesticides comme variable dépendante Y est visible Figure 10. Il permet de vérifier le que le principe sur lequel repose la méthode SPEAR pesticides est bien vérifié : plus la concentration en substances toxiques est élevée et plus la proportion d'espèces sensibles (espèces en péril) est faible. Afin de réaliser un tel constat, une régression linéaire est appliquée et le R calculé.

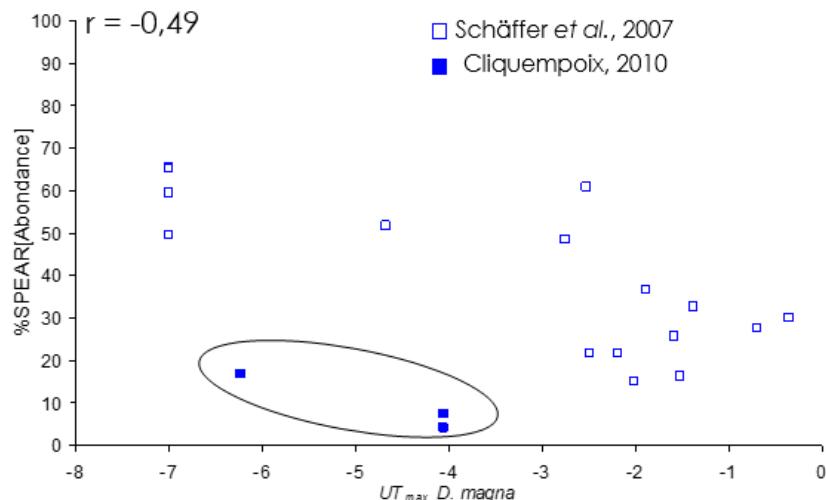


Figure 10: Relation pression toxique/SPEAR d'après Caquet and al., 2011

### 3.3 Lien entre déclin et SPEAR

Si un déclin est mis en évidence dans cette première partie de traitement des données, cette méthode sera répétée pour mettre en lien ce déclin avec SPEAR ; avec X, la variable indépendante définie par le nombre d'individus et Y la variable dépendante définie par la note SPEAR pesticides. De cette façon, il sera possible de répondre à l'ensemble des problématiques posées et de conclure cette étude.

Dans l'idéal, d'autres facteurs pouvant être responsables d'un éventuel déclin devraient également être pris en compte lors des tests statistiques afin de réduire le biais potentiel vis à vis des caractéristiques du milieu. Dans la méthode proposée ici, ceux-ci ne seront pas considérés en détails ; néanmoins il n'en demeure pas moins intéressant d'inclure le maximum de paramètres disponibles concernant le milieu dans l'étude. En outre, il serait possible de voir le lien existant entre les données et la nature de ce lien à travers des tests statistiques telle l'analyse de variance multivariée (MANOVA). La MANOVA permettrait dans ce cas précis de modéliser la dépendance de la densité des invertébrés aquatiques avec les éventuels facteurs de déclin ainsi que la note SPEAR.

# Conclusion

Lors des recherches effectuées en vue de répondre à la problématique initiale, des difficultés majeures sont apparues comme le manque de données brutes concernant les populations d'invertébrés aquatiques ainsi que les pesticides, rendant difficile la réalisation de cette étude à l'heure actuelle. Néanmoins, à l'aide de la bibliographie trouvée sur le sujet, il a été possible d'élaborer une méthode pouvant aboutir aux résultats souhaités.

La méthode ainsi proposée se décompose ainsi en trois étapes Figure 11. Tout d'abord l'étude des populations d'invertébrés qui passe par l'échantillonnage sous la forme du protocole défini pour établir les indices biologiques, ainsi que l'élaboration d'une régression linéaire pour observer les fluctuations des populations étudiées. En second temps, la réalisation de la note SPEAR pesticide permet de mettre en évidence l'effet des pesticides sur les taxons identifiés. Enfin, la note SPEAR et les données des populations sont mises en corrélation pour constater ou non un lien entre un déclin des invertébrés aquatiques et les pesticides.

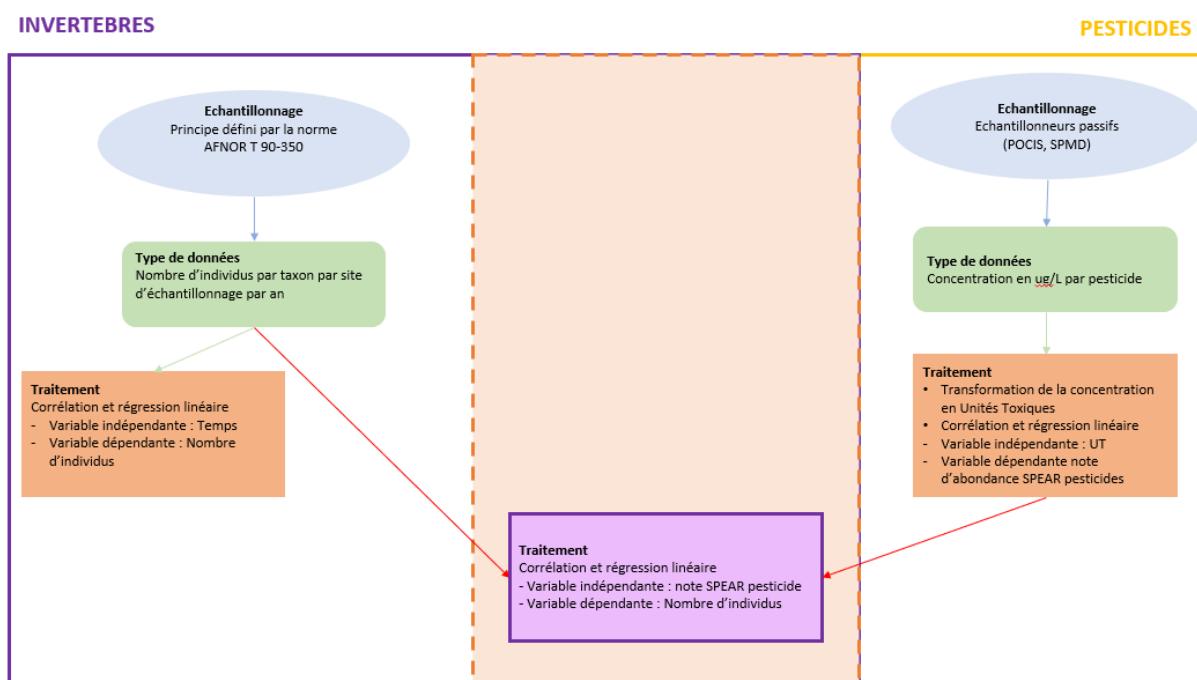


Figure 11: Synthèse des différentes étapes de l'étude

Cette méthode pourrait donc permettre de répondre aux problématiques de départ. Néanmoins, celle-ci présente des limites potentiellement non négligeables.

En effet, tous les facteurs caractérisant l'habitat ne sont pas pris en compte dans cette méthode. En outre, certaines métriques environnementales autres peuvent constituer une cause de déclin pour ces populations. De plus, même si en théorie, les traits biologiques des espèces retenus pour la méthode SPEARpesticides seraient uniquement influencés par le degré de stress causé par les pesticides, cela

n'est pas certain. Ainsi, dans ce cas de figure, un fort apport de pesticides au cours d'eau par ruissellement pourrait être jugé responsable d'un déclin alors que celui-ci pourrait être engendré par la modification d'un autre paramètre environnemental et donc créer un faux positif. Le protocole méthodologique constitue une approche intéressante et est, en somme, suffisant pour répondre aux questions posées mais il ne permet pas d'exclure complètement la présence d'un biais au sein des résultats.

Au travers des recherches réalisées en vue de répondre à la problématique initiale de cette étude, la difficulté voire l'impossibilité d'obtenir des données concernant aussi bien les populations des invertébrés que les pesticides ont été mises en évidence. Cette situation peut s'expliquer par le peu d'études réalisées et/ou le manque de moyens techniques à l'époque. Qui plus est, la question de la transparence des services de l'eau vis à vis de la population peut être posée. Enfin, on ne peut que suggérer fortement la création d'une méthode standardisée de partage des données entre les différents services de l'eau en France. La connaissance sur les masses d'eau par le grand public serait améliorée et les actions potentiellement optimisées.

## BIBLIOGRAPHIE

---

**Bálint M, Domisch S, Engelhardt CHM, et al (2011)** *Cryptic biodiversity loss linked to global climate change.* Nat Clim Chang 1:313–318. doi: 10.1038/nclimate1191

**Batino EW (2004)** Memoire Online - *Etude comparée de la distribution des macroinvertebres de trois petits lacs de barrages dans la Sissili au Burkina Faso.*

**Barker JR, Tingley DT (1992)** *Air pollution effects on biodiversity.* Springer Science & Business Media, New-York

**Pieters BJ, et Liess M (2006)** *Maternal nutritional state determines the sensitivity of Daphnia magna offspring to short-term Fenvalerate exposure* Aquatic Toxicology 76 (3): 268-77.

**Beketov MA, Mikhail A, et Liess M (2005)**. *Acute Contamination with Esfenvalerate and Food Limitation: Chronic Effects on the Mayfly, Cloeon Dipterum.* Environmental Toxicology and Chemistry 24 (5): 1281-86.

**Bellard C, Bertelsmeier C, Leadley P, et al (2012)** *Impacts of climate change on the future of biodiversity.* Ecol Lett 15:365–377. doi: 10.1111/j.1461-0248.2011.01736.x

**W. Beyers, D, Farmer M S., et Sikoski PJ (1995)** *Effects of rangeland aerial application of Sevin4Oil ® on fish and aquatic invertebrate drift in the Little Missouri River, North Dakota* Archives of Environmental Contamination and Toxicology - ARCH ENVIRON CONTAM TOXICOL 28: 27-34.

**Bournaud M, et Thibault M (1973)** *La dérive des organismes dans les eaux courantes.*

**Caquet T, Hanson ML, Roucaute M, et al (2007).** *Influence of Isolation on the Recovery of Pond Mesocosms from the Application of an Insecticide. II. Benthic Macroinvertebrate Responses* Environmental Toxicology and Chemistry 26 (6): 1280-90.

**Caquet T, Roucaute M, Rimet F, Bouchez (2001).** *Des bioindicateurs pour évaluer l'impact ou la restauration vis-à-vis des pesticides - Invertébrés* Colloque ONEMA Les méthodes d'évaluation de l'état des eaux : situation et perspectives dans le contexte de la DCE, Apr 2011, Paris, France. 20 p., 2011. ⟨hal-01453818⟩

« Circulaire du 07/05/07 définissant les " normes de qualité environnementale provisoires (NQE) | AIDA ». [https://aida.ineris.fr/consultation\\_document/7285](https://aida.ineris.fr/consultation_document/7285).

**Clavero M, Brotons L, Pons P, Sol D (2009)** *Prominent role of invasive species in avian biodiversity loss.* Biol Conserv 142:2043–2049. doi: 10.1016/j.biocon.2009.03.034

**Crossland, NO, Mitchell GC, et Dorn PB (1992)** *Use of Outdoor Artificial Streams to Determine Threshold Toxicity Concentrations for a Petrochemical Effluent.* Environmental Toxicology and Chemistry 11 (1): 49-59.

« Directive n° 76/464/CEE du 04/05/76 concernant la pollution causée par certaines substances | AIDA ». [https://aida.ineris.fr/consultation\\_document/1111](https://aida.ineris.fr/consultation_document/1111).

« Directive n° 2009/128/CE du 21/10/09 instaurant un cadre d'action communautaire pour parvenir à une utilisation des pesticides compatible avec le développement durable | AIDA ». [https://aida.ineris.fr/consultation\\_document/733](https://aida.ineris.fr/consultation_document/733).

**Dejous C et Elouard JM (1977)** Action de l'abatage sur les invertébrés aquatiques cinétique de décrochement à court et moyen terme.

**Early R, Bradley BA, Dukes JS, et al (2016)** Global threats from invasive alien species in the twenty-first century and national response capacities. Nat Commun 7:12485. doi: 10.1038/ncomms12485

**Eidt DC (1975)** The effect of fenitrothion from large-scale forest spraying on benthos in new brunswick headwaters streams The Canadian Entomologist 107 (7): 743-60.  
<https://doi.org/10.4039/Ent107743-7>.

**Essl F, Dullinger S, Rabitsch W, et al (2015)** Delayed biodiversity change: No time to waste. Trends Ecol Evol 30:375–378. doi: 10.1016/j.tree.2015.05.002

**Fahrig L (2010)** Effects of habitat fragmentation on biodiversity. Rev Lit Arts Am 34:487–515. doi: 10.1146/132419

**Fleeger JW, Carman KR, et Nisbet RM (2003)** Indirect Effects of Contaminants in Aquatic Ecosystems. The Science of the Total Environment 317 (1-3): 207-33.

**Galiana N, Lurgi M, Montoya JM, López BC (2014)** Invasions cause biodiversity loss and community simplification in vertebrate food webs. Oikos 123:721–728. doi: 10.1111/j.1600 0706.2013.00859.x

**Hess AS, Imbert E, Karabaghi C et al (2014)** Les macro-invertébrés benthiques bioindicateurs de la qualité de nos rivières. Direction Régionale de l'Environnement, de l'Aménagement et du Logement Centre (DREAL CENTRE), 5p.

**Katsanevakis S, Wallentinus I, Zenetos A, et al (2014)** Impacts of invasive alien marine species on ecosystem services and biodiversity: a pan-European review. Aquat Invasions 9:391–423. doi: 10.3391/ai.2014.9.4.01

**Krauss J, Bommarco R, Guardiola M, et al (2010)** Habitat fragmentation causes immediate and time-delayed biodiversity loss at different trophic levels. Ecol Lett 13:597–605. doi: 10.1111/j.1461-0248.2010.01457.x

**Liber K, Goodfellow w, Pieter den Besten and al. (2007)** In Situ-Based Effects Measures: Considerations for Improving Methods and Approaches. Integrated Environmental Assessment and Management 3 (2): 246-58.

**Liess M (2002)** Population Response to Toxicants Is Altered by Intraspecific Interaction Environmental Toxicology and Chemistry 21 (1): 138-42.

**Liess M, et Carsten Von Der Ohe P (2005)** Analyzing effects of pesticides on invertebrate communities in streams - Environmental Toxicology and Chemistry - Wiley Online Library

**Liess M, Schäfer RB., et Schriever CA (2008)** The footprint of pesticide stress in communities—Species traits reveal community effects of toxicants. Science of The Total Environment, Ecological effects of diffuse pollution, 406, n° 3 : 484-90.

**Liess M, et Schulz R (2009)** *Linking Insecticide Contamination and Population Response in an Agricultural Stream* Environmental Toxicology and Chemistry 18 (9): 1948-55.

**Liger L, Carluer N, Coqueryet M et al. (2012)** *Analyse comparée de différentes méthodes d'échantillonnage actif pour le suivi de la contamination en produits phytosanitaires dans les eaux de surface*

**Madden C, Suter P, Nicholson BC, et al (1992)** *Deformities in chironomid larvae as indicators of pollution (pesticide) stress.* Vol. 26, 1992.

**Maiti S, Chowdhury A (2013)** *Effects of anthropogenic pollution on mangrove biodiversity: a review.* J Environ Prot (Irvine, Calif) 2013:1428–1434. doi: 10.4236/jep.2013.412163

**Matthiessen P, Sheahan D, Harrison R et al (1995)** *Use of a Gammarus Pulex Bioassay to Measure the Effects of Transient Carbofuran Runoff from Farmland* Ecotoxicology and Environmental Safety 30, n° 2: 111-19

**McMullin RT, Bennett LL, Bjorgan OJ, et al (2016)** *Relationships between air pollution, population density, and lichen biodiversity in the Niagara Escarpment World Biosphere Reserve.* Lichenol 48:593–605. doi: 10.1017/S0024282916000402

**Tada M, et Shiraishi H (1994)** *Changes in Abundance of Benthic Macroinvertebrates in a Pesticide-contaminated River* Japanese Journal of Limnology (Rikusuigaku Zasshi) 55 (1 janvier 1994): 165-70.

**Mondy CP, Villeneuve B, Archaimbault V et al, A New Macroinvertebrate-Based Multimetric Index (I2M2) to Evaluate Ecological Quality of French Wadeable Streams Fulfilling the WFD Demands: A Taxonomical and Trait Approach** Ecological Indicators Complete, n° 18: 452-67

**Morrison, et Wells (1981)** *The Fate of Fenitrothion in a Stream Environment and Its Effect on the Fauna, Following Aerial Spraying of a Scottish Forest* The Science of the Total Environment 19 (3): 233-52.

**Munir T, Hussain M, Naseem S (2016)** *Water pollution - A menace of freshwater biodiversity: a review.* J Entomol Zool Stud 4:578–580.

**Münze R, Hannemann C, Orlinskiy P et al. (2017)** *Pesticides from wastewater treatment plant effluents affect invertebrate communities* Sciece of The Total Environment 599-600: 387-99.

**Papy F, Riou C, Bonhomme et al (2001)** *L'eau dans l'espace rural: Vie et milieux aquatiques.* Quae.

**Pimm SL, Raven P (2000)** *Biodiversity. Extinction by numbers.* Nature 403:843–845. doi: 10.1038/35002708

**Pouvreau R (2015)** *Comparaison de différents indices hydrobiologiques invertébrés en Ile-de-France,* 81.

**Rasmussen J. J., McKnight US, Loinaz MC et al. (2013)** *A catchment scale evaluation of multiple stressor effects in headwater streams* Science of the Total Environment 442 (2013): 420-31.

**Roucaute M, Auber A, Caquet T et al. (2011)** *Adaptation et application de l'indice SPEAR aux études en mésocosmes lentiques,* 19.

**Ruellet T, et Daunin JC (2008)** *Biodiversité des invertébrés aquatiques de la partie orientale de la baie et de l'estuaire de Seine : la base de données CISA, deux siècles d'observations* ». [/data/revues/16310691/03310006/08000929/](http://data/revues/16310691/03310006/08000929/)

**Schäfer, Ralf B., Carsten von der Ohe P et al (2012).** *Thresholds for the Effects of Pesticides on Invertebrate Communities and Leaf Breakdown in Stream Ecosystems* Environmental Science & Technology 46, n° 9: 5134-42.

**Schletterer M, Füreder L, Kuzovlev V, et al (2010)** *Testing the coherence of several macroinvertebrate indices and environmental factors in a large lowland river system (Volga River, Russia)* Ecological Indicators - ECOL INDIC 10: 1083-92.

**Shortall CR, Alison Moore, Emma Smith et al. (2009)** *Long-Term Changes in the Abundance of Flying Insects* Insect Conservation and Diversity 2, n° 4: 251-60.

**SPEARpesticides (2015)** Wikipedia,  
<https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=SPEARpesticides&oldid=671532899>

**Thomas CD, Cameron A, Green RE, et al (2004)** *Extinction risk from climate change*. Nature 427:145–148

**Thybaud E, et Petit V (1996)** *Méthodes d'étude de l'écotoxicité : application à l'évaluation de l'impact potentiel des eaux résiduaires d'incendie sur les écosystèmes aquatiques*, Journée de l'AFITE "Risques technologiques et pollution de l'environnement quels outils pour les prévoir et les maîtriser", Oct 1996, Lyon, France. 5-18, 1996. <ineris-00971980>

**Townsend CR et Hildrew AG (1994)** « Species traits in relation to a habitat templet for river systems ». *Freshwater Biology* 31, n° 3: 265-75.

## TABLE DES ANNEXES

---

<b>ANNEXE 1 : Liste des taxons d'invertébrés aquatiques utilisés dans l'élaboration de la note IBGN (SIABV).....</b>	i
<b>ANNEXE 2 : Études de terrain (sauf LIESS and BELETOV, 2011) ayant conclu à l'existence d'un lien..</b>	ii
<b>ANNEXE 3 : Extrait de liste des familles incluses dans la base de données SPEAR (Liess et al. 2008) avec leur définition SPEAR pour le Royaume-Uni.....</b>	iv

**ANNEXE 1 : Liste des taxons d'invertébrés aquatiques utilisés dans l'élaboration de la note IBGN  
(SIABV)**

<b>INSECTES</b>	<b>HÉTÉROPTÈRES</b>	<b>MOLLUSQUES</b>
<b>PLÉCOPTÈRES</b>	<b>Aphelocheiridae</b>	
<i>Capniidae</i>	<i>Corixidae</i>	<b>BIVALVES</b>
<i>Chloroperlidae</i>	<i>Gerridae</i>	<i>Corbiculidae</i>
<i>Leuctridae</i>	<i>Hebridae</i>	<i>Dreissenidae</i>
<i>Nemouridae</i>	<b>Hydrometridae</b>	<i>Margaritiferidae</i>
<i>Perlidae</i>	<i>Naucoridae</i>	<i>Sphaeriidae</i>
<i>Perlodidae</i>	<i>Notonectidae</i>	<i>Unionidae</i>
<i>Taeniopterygidae</i>	<i>Mesovelidae</i>	<b>GASTÉROPODES</b>
	<i>Pleidae</i>	<i>Ancylidae</i>
<b>TRICHOPTÈRES</b>	<i>Velidae</i>	<i>Acroloxiidae</i>
<i>Beraeidae</i>	<b>COLÉOPTÈRES</b>	<i>Bithynidae</i>
<i>Brachycentridae</i>	<i>Curculionidae</i>	<i>Ferrissiidae</i>
<i>Calamoceratidae</i>	<i>Chrysomelidae</i>	<i>Hydrobiidae</i>
<i>Ecnomidae</i>	<i>Dryopidae</i>	<i>Lymnaeidae</i>
<i>Glossosomatidae</i>	<i>Dytiscidae</i>	<i>Neritidae</i>
<i>Goeridae</i>	<i>Elmidae</i>	<i>Physidae</i>
<i>Helicopsychidae</i>	<i>Gyrinidae</i>	<i>Planorbidae</i>
<i>Hydropsychidae</i>	<i>Halipidae</i>	<i>Valvatidae</i>
<i>Hydropsytilidae</i>	<i>Helodidae</i>	<i>Viviparidae</i>
<i>Lepidostomatidae</i>	<i>Helophoridae</i>	
<i>Leptoceridae</i>	<i>Hydraenidae</i>	<b>VERS</b>
<i>Limnophilidae</i>	<i>Hydrochidae</i>	<b>PLATHELMINTHES</b>
<i>Molannidae</i>	<i>Hydrophilidae</i>	<b>TRICLADES</b>
<i>Odontoceridae</i>	<i>Hydroscaphidae</i>	<i>Dendrocoelidae</i>
<i>Philopotamidae</i>	<i>Hygrobiidae</i>	<i>Dugesiidae</i>
<i>Phryganeidae</i>	<i>Noteridae</i>	<i>Planariidae</i>
<i>Polycentropodidae</i>	<i>Psephenidae</i>	
<i>Psychomyidae</i>	<i>Spercheidae</i>	<b>ANNÉLIDES</b>
<i>Rhyacophilidae</i>		<b>ACHÉTES</b>
<i>Sericostomatidae</i>	<b>DIPTÈRES</b>	<i>Branchiobdellidae</i>
<i>Uenoidae</i>	<i>Anthomyidae</i>	<i>Erpobdellidae</i>
	<i>Athericidae</i>	<i>Glossiphoniidae</i>
<b>ÉPHÉMÉROPTÈRES</b>	<i>Blephariceridae</i>	<i>Hirudidae</i>
<i>Ameletidae</i>	<i>Ceratopogonidae</i>	<i>Piscicolidae</i>
<i>Baetidae</i>	<i>Chaoboridae</i>	
<i>Caenidae</i>	<i>Chironomidae</i>	<b>OLIGOCHÈTES</b>
<i>Ephemerellidae</i>	<i>Culicidae</i>	<b>NÉMATHELMINTHES</b>
<i>Ephemeridae</i>	<i>Cylindrotomidae</i>	
<i>Heptageniidae</i>	<i>Dixidae</i>	<b>HYDRACARIENS</b>
<i>Isonychiidae</i>	<i>Dolichopodidae</i>	
<i>Leptophlebiidae</i>	<i>Empididae</i>	<b>HYDROZOAIRES</b>
<i>Neophemeridae</i>	<i>Ephydriidae</i>	
<i>Oligoneuriidae</i>	<i>Limoniidae</i>	<b>SPONGIAIRES</b>
<i>Polymitarcidae</i>	<i>Psychodidae</i>	
<i>Potamanthidae</i>	<i>Ptychopteridae</i>	<b>BRYOZOAIRES</b>
<i>Prosopistomatidae</i>	<i>Rhagionidae</i>	
<i>Siphlonuridae</i>		<b>NÉMERTIENS</b>

**ANNEXE 2 : Études de terrain (sauf LIESS and BELETOV, 2011) ayant conclu à l'existence d'un lien certain entre la présence de pesticides (apports par ruissellement, sauf indication contraire) par utilisation de la méthode SPEARpesticides**

Référence	Sources des données	Espèces étudiées	Substances	Nombre, critères de choix des stations	Principaux résultats obtenus
LIESS et CARSTEN VON DER OHEC, 2005 <i>Analyzing effects of pesticides on invertebrate communities in streams</i>	Echantillonnage durant l'étude, d'avril à juillet 1998 à 2000	Communauté de macroinvertébrés  Sensibilité aux substances toxiques + 3 caractéristiques écologiques étudiées au pendant une période d'application maximale de pesticides (CL50) :  • Temps de génération, • Capacité de migration • Présence de stades aquatiques	7 insecticides  6 fongicides  8 herbicides	20 rivières d'Europe centrale :  • Débit d'eau minimum ; • Absence de drainage avant et pendant l'enquête • Diverses classes de pesticides, résultant des différences dans le pourcentage de terres arables	Concentration variées (1/10 et 1/100 de la (CL50) sur <i>Daphnia magna</i> 48 heures => réduction de l'abondance et du nombre de SPEAR et augmentation correspondante de d'espèces notSPEAR à court terme et à long terme
LIESS et al., 2008 <i>The footprint of pesticide stress in communities—Species traits reveal community effects of toxicants</i>	Exploite l'étude ci-dessus, LIESS et CARSTEN VON DER OHEC, 2005 « Analyzing effects of pesticides on invertebrate communities in streams » avec un axe plus méthodologique.				
BEKETOV et LIESS 2008 <i>An indicator for effects of organic toxicants on lotic invertebrate communities: Independence of confounding environmental factors over an extensive river continuum</i>	Echantillonnage Juin à août 2004 et 2005	Communauté de macroinvertébrés	Pesticides  Produits Pétrochimique  Tensioactifs synthétiques	Comparaison cours d'eau perturbées et contaminés  Choix de deux régions du sud-ouest de la Sibérie.  497 échantillons ont été prélevés sur 19 sites, (11 desquels il n'y a pas eu d'impact anthropique)	Méthode SPEAR <sub>pesticide</sub> fiable :  Indépendant des facteurs longitudinaux naturels,  Forte dépendance à contamination par des substances toxiques organiques (produits pétrochimiques et agents de surface synthétiques)

RASSMUSSEN and al, 2013 <i>A catchment scale evaluation of multiple stressor effects in headwater streams</i>	Echantillonnage 2010-2011  Eau de ruisellement (août), eaux souerraines,	Communauté de macroinvertébrés  8 paramètres mesurés : richesse taxonomique, abondance totale en macroinvertébrés, abondance en EPT, diversité en Simpson, scores au DSFI, scores au LIFE et pesticide % SPEARabondance	Herbicides, Fongicides Insecticides xénobiotiques  Au total : 45 composés organiques toxiques	11 cours d'eau altérés dans le bassin versant de Hove dans la région de Copenhague  Sites de contrôle : NOVADANA  Données disponibles (chimie générale de l'eau, hydromorphologie et échantillons de macroinvertébrés)	Identification des facteurs de stress anthropiques dominants à l'échelle du bassin hydrographique, entraînant une dégradation de l'environnement des communautés de macroinvertébrés benthiques
SCAFER and al., 2012 <i>Thresholds for the effects of pesticides on invertebrate communities and leaf breakdown in stream ecosystems</i>	Méta-analyse  8 études conduites entre 1998 et 2010 (d'une durée comprise entre 2,5 et 36 mois) et comprenant	Communauté de macroinvertébrés	Herbicides  Pesticides	111 sites au total  6 régions d'Europe  Sites sélectionnés dans zone agricole pour ne pas recevoir de rejets d'usines de traitement des eaux usées, d'installations industrielles ou de mines, afin d'exclure les intrants de substances toxiques autres que les pesticide/Site de référence : Zone boisées	Methode SPEAR <sub>pesticides</sub> pertinente =>  Bonne relation entre la toxicité des pesticides en termes de TU et de SPEARPréconise l'utilisation d'approches fondées sur les traits dans l'évaluation des risques/ Les sections forestières situées en amont peuvent réduire les effets néfastes des pesticides sur la communauté de macroinvertébrés, en particulier lorsque la contamination par les pesticides est faible
SCHLETTNER and al., 2010 <i>Testing the coherence of several macroinvertebrate indices and environmental factors in a large lowland river system (Volga River, Russia). Ecological Indicators.</i>	Méta-analyse	Communauté de macroinvertébrés  122 taxons		53 sites d'échantillonnages  Indice biologiques mesurés : Richesse taxonomique, EPT, Indice de Shannon, Indice d'égalité, SPEAR <sub>pesticide</sub> , SPEAR <sub>biotique</sub> , SI	Indices SI et SPEAR étaient indépendants de la largeur du chenal et des facteurs longitudinaux connexes.  SPEAR <sub>pesticides</sub> peut être appliqués à différents types de cours d'eau ainsi qu'à différentes régions biogéographiques.en Europe  Indépendance des indices SPEAR vis-à-vis des facteurs environnementaux abiotiques
LIESS and BEKETOV, 2011. <i>Traits and stress - keys to identify community effects of low levels of toxicants in test systems</i>	Période expérimentale  2006-2007 Mésocosme	Communauté macroinvertébrés	Thiaclopride est un insecticide à base de néocotinoïde (Solution-mère)	4 canaux artificiels ?	

**ANNEXE 3: Extrait de liste des familles incluses dans la base de données SPEAR (Liess et al. 2008) avec leur définition SPEAR pour le Royaume-Uni**

<b>Family</b>	<b>SPEAR definition</b>
Niphargidae	1
Odontoceridae	1
Palaemonidae	1
Perlodidae	1
Philopotamidae	1
Phryganeidae	1
Polycentropodidae	1
Polymitarcyidae	1
Portunidae	1
Potamanthidae	1
Psychodidae	1
Psychomyiidae	1
Ptychopteridae	1
Pyralidae	1
Rhagionidae	1
Rhyacophilidae	1
Sciomyzidae	1
Sericostomatidae	1
Sialidae	1
Siphlonuridae	1
Sisyridae	1
Stratiomyidae	1
Syrphidae	1
Taeniopterygidae	1
Acroloxiidae	0
Aelosomatidae	0
Aeshnidae	0
Ampharetidae	0
Ancylidae	0
Aphelocheiridae	0
Argyronetidae	0
Asellidae	0
Assimineidae	0
Astacidae	0
Bithyniidae	0
Chironomidae	0
Chrysomelidae	0
Corbiculidae	0
Cordulegasteridae	0
Corduliidae	0
Corixidae	0
Corophiidae	0
Crangonidae	0
Curculionoidea	0

**Directeur de recherche : Catherine BOISNEAU**  
**PFE- DAE 5 Année 2018-2019**



Julie ORPEL      Isabelle SERRA

**Filière Ingénierie des Milieux  
Aquatiques**

---

***Méthodologie visant à établir un lien entre la densité des  
invertébrés aquatiques et les pesticides retrouvés dans les eaux***

---

**Résumé :**

L'amplification des activités humaines et notamment celle de l'agriculture depuis les années 60 constitue une véritable menace pour les populations endémiques. En octobre 2017, Hallmann et al. ont publié une étude montrant que la biomasse des insectes volants avait diminué de 75% en 27 ans, déclin qui a ensuite été corrélé avec l'intensification de l'agriculture.

Si les populations d'insectes volants telles que les polliniseurs, sont depuis longtemps suivies au vu des services qu'elles rendent à l'Homme, qu'en est-il des macroinvertébrés aquatiques ? Une diminution de leur richesse taxonomique et de leur densité est-elle observée ? Sont-ils également victimes de pollutions d'origine agricole ? Ainsi, les objectifs initiaux de cette étude étaient :

- (1) de collecter des données et les traiter afin de tester l'hypothèse selon laquelle les densités d'invertébrés aquatiques ont diminué depuis les années 1970.
- (2) puis, dans le cas où celle-ci s'avérait juste ; de mettre ces données en corrélation avec la concentration de pesticides retrouvée dans les eaux.

Cependant, la recherche infructueuse de jeux données brutes sur les sites des acteurs de l'eau institutionnels a inévitablement conduit à l'adaptation de la problématique initiale. En effet, le présent mémoire constitue donc une méthodologie détaillée pouvant permettre de répondre aux objectifs initiaux dans le cas où les données seraient accessibles. Cette méthodologie peut être scindée en 3 étapes : mesure du déclin potentiel d'invertébrés, application de la méthode SPEARpesticides basée sur les traits biologiques des espèces et finalement, lien entre le déclin et SPEAR.

**Mots Clés :** Déclin – Invertébrés aquatiques – IBGN/I2M2 – Traits écologiques – Méthode SPEARpesticides – Corrélation – Régression linéaire