



**HAL**  
open science

## Journée Scientifique de l'Unité Mixte de Recherche Microbiologie des Sols - Géochimie des Interfaces Sol-Eau

Corinne Parat, Brigitte Elbisser, Eric Lichtfouse

► **To cite this version:**

Corinne Parat, Brigitte Elbisser, Eric Lichtfouse. Journée Scientifique de l'Unité Mixte de Recherche Microbiologie des Sols - Géochimie des Interfaces Sol-Eau. Corinne Parat, Eric Lichtfouse. Journée Scientifique de l'Unité Mixte de Recherche Microbiologie des Sols - Géochimie des Interfaces Sol-Eau, May 2001, Dijon, France. pp.35, 2001. hal-01451178

**HAL Id: hal-01451178**

**<https://hal.science/hal-01451178>**

Submitted on 31 Jan 2017

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# Journée Scientifique

**Unité Mixte de Recherche  
 Microbiologie des Sols  
 Géochimie des Interfaces Sol-Eau**

INRA - Université de Bourgogne

Avec la participation de la Cellule d'Application en Écologie  
 et de l'Association de Chimie Environnementale



**VENDREDI 18 MAI 2001, 8h15 - 18h00**

Amphithéâtre d'Orbigny

Université de Bourgogne, 6, Bd Gabriel, 21000 Dijon.

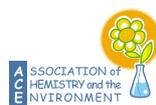
**CARBONE, GAZ À EFFET DE SERRE  
 PESTICIDES  
 ÉCOLOGIE MICROBIENNE  
 MÉTAUX ET QUALITÉ DES SOLS**



[www.inra.fr](http://www.inra.fr)



[www.dijon.inra.fr](http://www.dijon.inra.fr)



[www.u-bourgogne.fr/ACE](http://www.u-bourgogne.fr/ACE)



[www.u-bourgogne.fr](http://www.u-bourgogne.fr)

**Journée scientifique de l'unité mixte de recherche**  
**Microbiologie des Sols - Géochimie des Interfaces Sol-Eau (A 111)**

Institut National de la Recherche Agronomique - Université de Bourgogne

Avec la participation de :       - la cellule d'application en écologie (C.A.E.)  
  - l'association de chimie environnementale (A.C.E.)

**Vendredi 18 mai 2001**  
Amphithéâtre d'Orbigny  
Université de Bourgogne  
6, Bd Gabriel, 21000 Dijon.

Comité d'organisation

Christian BOUPASSIA  
Évelyne DEBIERRE  
Sylvie DOUSSET  
Brigitte ELBISSER-LICHTFOUSE  
Jean-Claude GERMON  
Catherine HÉNAULT  
Éric LICHTFOUSE  
Fabrice MARTIN  
Sylvie MAZURIER  
Corinne PARAT  
Nicole ROBLLOT

INRA	<a href="http://www.inra.fr">www.inra.fr</a>
Université de Bourgogne	<a href="http://www.u-bourgogne.fr">www.u-bourgogne.fr</a>
INRA, Centre de Dijon	<a href="http://www.dijon.inra.fr">www.dijon.inra.fr</a>
INRA, Microbiologie des Sols	<a href="http://www.dijon.inra.fr/mds/mds.htm">www.dijon.inra.fr/mds/mds.htm</a>
GéoSol	<a href="http://www.u-bourgogne.fr/Recherche/91203.html">www.u-bourgogne.fr/Recherche/91203.html</a>
Cellule d'Application en Écologie	<a href="http://www.u-bourgogne.fr/Recherche/90809.html">www.u-bourgogne.fr/Recherche/90809.html</a>
Association de Chimie Environnementale	<a href="http://www.u-bourgogne.fr/ACE">www.u-bourgogne.fr/ACE</a>
Biogéosciences	<a href="http://www.u-bourgogne.fr/BIOGEOSCIENCE">www.u-bourgogne.fr/BIOGEOSCIENCE</a>

## Annuaire de l'UMR Microbiologie des Sols - GéoSol

### Microbiologie des Sols

ALLARD Marie-Reine	03 80 69 32 93	allard@dijon.inra.fr
AMARGER Noëlle	03 80 69 30 92	amarger@dijon.inra.fr
ARRAULT Sandra	03 80 69 30 99	arrault@dijon.inra.fr
BIZOUARD Florian	03 80 69 36 50	bizouard@dijon.inra.fr
BOURS Michèle	03 80 69 30 95	Michele.Bours@dijon.inra.fr
BREUIL Marie-Christine	03 80 69 30 89	breuil@dijon.inra.fr
CATROUX Colette	03 80 69 30 93	ccatroux@dijon.inra.fr
CATROUX Gérard	03 80 69 32 91	catroux@dijon.inra.fr
CHAUSSOD Rémi	03 80 69 30 89	chaussod@dijon.inra.fr
CHENEBY Dominique	03 80 69 30 97	cheneby@dijon.inra.fr
CORNET Laurent	03 80 69 31 06	
COUTON Yves	03 80 69 30 97	couton@dijon.inra.fr
DANIERE-REVELLIN Cécile	03 80 69 32 94	revellin@dijon.inra.fr
DEPRET Géraldine	03 80 69 30 92	depret@dijon.inra.fr
DEVROE Christine	03 80 69 34 90	devroe@dijon.inra.fr
FOURNIER Jean-Claude	03 80 69 30 99	fournier@dijon.inra.fr
GARCIA Fabienne	03 80 69 30 90	garcia@dijon.inra.fr
GERMON Jean-Claude	03 80 69 30 91	germon@dijon.inra.fr
GIRAUD Jean-Jacques	03 80 69 33 45	giraud@dijon.inra.fr
GOMEZ Marisa	03 80 69 32 94	gomez@dijon.inra.fr
HACHAIR Sophie	03 80 69 35 41	hachair@dijon.inra.fr
HALLET Stéphanie	03 80 69 37 05	hallet@dijon.inra.fr
HARTMANN Alain	03 80 69 32 95	hartmann@dijon.inra.fr
HENAULT Catherine	03 80 69 30 94	henault@dijon.inra.fr
LAGACHERIE Bernard	03 80 69 32 98	lagacherie@dijon.inra.fr
LAGUERRE Gisèle	03 80 69 30 93	laguerre@dijon.inra.fr
LEGER Annie	03 80 69 33 24	leger@dijon.inra.fr
MARMONT Frédéric	03 80 69 30 59	marmont@dijon.inra.fr
MARTIN Fabrice	03 80 69 31 06	fmartin@dijon.inra.fr
MAZURIER Sylvie	03 80 69 30 93	mazurier@dijon.inra.fr
MOREL Catherine	03 80 69 30 90	camorel@dijon.inra.fr
NOAIM Rachida	03 80 69 30 89	Rachida.Nouaim@dijon.inra.fr
NOWAK Virginie	03 80 69 30 89	nowak@dijon.inra.fr
PHILIPPOT Laurent	03 80 69 33 46	philippot@dijon.inra.fr
PIUTTI Séverine	03 80 69 31 06	piutti@dijon.inra.fr
PONCE Carmen	03 80 69 30 99	Carmen.Ponce@dijon.inra.fr
ROUARD Nadine	03 80 69 31 06	rouard@dijon.inra.fr
ROUSSEAU Sandrine	03 80 69 31 06	rousseau@dijon.inra.fr
SIBLOT Séverine	03 80 69 34 94	siblot@dijon.inra.fr
SOMMER Georges	03 80 69 31 02	sommer@dijon.inra.fr
SOULAS Guy	03 80 69 30 98	soulas@dijon.inra.fr
SOULAS Marie-Louise	03 80 69 30 09	mlsoulas@dijon.inra.fr
TERRIER Marie-Claire	03 80 69 36 50	terrier@dijon.inra.fr
WAGSCHAL Isabelle	03 80 69 31 06	wagschal@dijon.inra.fr
ZERHARI Karim	03 80 69 34 85	zerhari@dijon.inra.fr

### **Cellule d'Application en Ecologie CAE**

BOUDIER Eric	03 80 39 62 25	eric.boudier@u-bourgogne.fr
CHAMBAUD François	03 80 39 62 49	francois.chambaud@u-bourgogne.fr
CHAUVIN Christian	03 80 39 62.25	christian.chauvin@u-bourgogne.fr
FIX Stéphanie	03 80 39 38.31	stephanie.fix@u-bourgogne.fr
GENIN Brigitte	03 80 39 62.25	brigitte.genin@u-bourgogne.fr
MAUPETIT Brigitte	03 80 39 63.37	brigitte.maupetit@u-bourgogne.fr
OBERTI Dominique	03 80 39 62.49	dominique.oberti@u-bourgogne.fr

### **Géochimie des Interfaces Sol – Eau**

AGASSOUNON Léonard	03 80 39 37 80	Leonard.Agassounon@u-bourgogne.fr
AMIOTTE-SUCHET Philippe	03 80 39 68 88	phamiots@u-bourgogne.fr
ANDREUX Francis	03 80 39 63 64	Francis.Andreux@u-bourgogne.fr
BOUPASSIA Christian	03 80 39 37 80	christian.boupassia@u-bourgogne.fr
BLANCHOT Cédric		Cedric.Blanchot@u-bourgogne.fr
DOUSSET Sylvie	03 80 39 68 88	Sylvie.Dousset@u-bourgogne.fr
LANDRY David	03 80 39 37 24	David.Landry@u-bourgogne.fr
LEVEQUE Jean	03 80 39 63 63	Jean.Leveque@u-bourgogne.fr
LINGLOIS Nathalie	03 80 39 37 24	Nathalie.Linglois@u-bourgogne.fr
LICHTFOUSE Eric	03 80 39 63 72	Eric.Lichtfouse@u-bourgogne.fr
MATHIEU Olivier	03 80 69 30 94	olivier.mathieu@u-bourgogne.fr
MILLOUX Marie-Jeanne	03 80 39 63 78	Marie-Jeanne.Milloux@u-bourgogne.fr
MONNA Fabrice	03 80 39 63 55	Fabrice.Monna@u-bourgogne.fr
PARAT Corinne	03 80 39 37 80	Corinne.Parat@u-bourgogne.fr
ROUX Florence	03 80 39 37 80	Florence.Roux@u-bourgogne.fr
TUAL Magali		Magalie.Tual@u-bourgogne.fr

**PROGRAMME**

- 8h15      **INTRODUCTION**  
Gérard CATROUX, directeur  
Francis ANDREUX, directeur-adjoint
- CARBONE, GAZ À EFFET DE SERRE**  
Modérateurs : Catherine HÉNAULT, Jean LÉVEQUE
- 8h30      1      Organisation et caractérisation des sols et des sédiments du géosystème  
marginolittoral de l'Ouémé-Sô.  
Léonard AGASSOUNON
- 8h45      2      Utilisation des isotopes du soufre (<sup>34</sup>S, <sup>32</sup>S) pour la caractérisation des matières  
organiques : application à l'étude des formations sédimentaires.  
Jean LÉVEQUE
- 9h00      3      Le carbone organique dans les sols sous Douglas (*Pseudotsuga menziesii*)  
après coupe forestière dans le Haut Beaujolais.  
Florence ROUX
- 9h15      4      Variabilité du  $\delta^{13}\text{C}$  du carbone inorganique dissous dans les eaux d'écoulement :  
équilibre isotopique avec la phase gazeuse ou non ?  
Philippe AMIOTTE-SUCHET
- 9h30      5      Traçage isotopique naturel du carbone organique dissous dans des petits bassins  
versants du Morvan.  
Nathalie LINGLOIS
- 9h45      6      Modélisation des émissions de N<sub>2</sub>O par les sols à l'échelle de la parcelle agricole.  
Catherine HÉNAULT
- 10h00     7      Influence du pH sur les propriétés des sols.  
Annie PERNES-DEBUYSER (Invitée, INRA Science du Sol, Versailles)
- 10h15     **Pause-café**, offerte par GéoSol
- PESTICIDES**  
Modérateurs : Sylvie DOUSSET, Francis ANDREUX
- 10h45     1      Transfert de l'oryzalin, du diuron et de ses métabolites majeurs en colonne  
de sol structuré.  
David LANDRY
- 11h00     2      Étude de la dégradation de l'isoxaben dans le sol.  
Sandra ARRAULT
- 11h15     3      Étude de l'impact de l'atrazine et du nicosulfuron sur la microflore des  
sédiments.  
Laurent CORNET
- 11h30     4      Étude de l'effet du maïs sur la capacité du sol brun lessivé de la Bouzule à  
dégrader l'atrazine.  
Séverine PIUTTI
- 11h45     5      Isolement et caractérisation physiologique et moléculaire de consortia bactériens  
dégradant l'atrazine à partir de sol ou de rhizosphère de maïs.  
Isabelle WAGSCHAL

12h00 6 Utilisation de l'isotope  $^{13}\text{C}$  pour quantifier le transfert du pentachlorophénol dans les systèmes sol-eau.  
Sylvie DOUSSET

12h20 **Repas à la cantine du centre INRA**, offert par l'UMR

### **ÉCOLOGIE MICROBIENNE**

Modérateurs : Fabrice MARTIN, Gérard CATROUX

14h00 1 Extraction d'ADN du sol : biais pour de nouvelles techniques d'analyse microbiennes ?  
Stéphanie HALLET

14h15 2 La PCR compétitive comme un outil pour détecter et quantifier les gènes *atz C*, *16S* et *18S* dans des échantillons d'ADN extraits de sol traité avec l'atrazine.  
Fabrice MARTIN

14h30 3 La dénitrification et la production de  $\text{N}_2\text{O}$  dans la rhizosphère du maïs : effet sur l'activité et sur les populations bactériennes impliquées.  
Dominique CHENEBY

14h45 4 Stress environnementaux : recherche de marqueurs des états physiologiques chez les bactéries.  
Alain HARTMANN

### **MÉTAUX ET QUALITÉ DES SOLS**

Modérateurs : Fabrice MONNA, Eric LICHTFOUSE

15h00 1 La gestion des milieux naturels, un exemple de diagnostic écologique.  
Christian CHAUVIN

15h15 2 Inventaire des zones humides de Bourgogne. Méthodes et perspectives.  
Dominique OBERTI

15h30 3 Typologie prairiale et définition de bioindicateurs du niveau d'engorgement des prairies et de la dépendance à l'eau des sols.  
François CHAMBAUD

15h45 **Pause jus de fruit**, offerte par GéoSol

16h15 4 Un héritage de plomb.  
Fabrice MONNA

16h30 5 Étude des sols manganésifères du Haut – Ogooué au sud est du Gabon.  
Christian BOUPASSIA

16h45 6 Effet d'applications répétées du sulfate de cuivre sur la taille et la structure des populations de *rhizobium leguminosarum*.  
Sophie HACHAIR

17h00 7 Effet à long terme des amendements organiques sur la qualité des sols. Approches géochimique et biologique.  
Corinne PARAT

17h15 8 Molécules humiques, isotopes et métaux.  
Eric LICHTFOUSE

17h30 **Clôture de la journée**

Cocktail offert par l'association de chimie environnementale

# Carbone, Gaz à Effet de Serre

# 1. Organisation et caractérisation des sols et des sédiments du géosystème margino-littoral de l'Ouémé-Sô depuis 7.000 ans B.P. (Bénin - Afrique de l'Ouest)

Léonard Coffi AGASSOUNON

Au cours de l'Holocène récent, les paléo-environnements ouest – africains, en particulier pour le domaine margino-littoral, se modifient en relation avec les fluctuations du niveau marin, les flux sédimentaires continentaux et les systèmes pédogénétiques. Au centre du Golfe de Guinée, de nombreux auteurs soulignent que l'existence du couloir dahoméen doit être interprété comme une zone d'influence climatique majeure, entre les influences marines et sahéliennes, sans preuve concrètes. Ce "Dahomey Gap" se caractérise par un ensemble de savanes et de forêts sèches insérées entre deux régions équatoriales de forêts tropicales denses.

Au Sud du Bénin, des études floristiques et des campagnes d'échantillonnage des formations superficielles ont été réalisées dans la vallée de l'Ouémé-Sô qui rejoint le lac Nokoué, lui-même isolé de la mer par des cordons littoraux sableux. Plusieurs épisodes d'accumulation de matières organiques sont identifiés dans des forages de 3 à 10 m de profondeur. Elles montrent globalement une transition des faciès marins vers des faciès continentaux. Les niveaux les plus importants de matières organiques entre 2 et 7 m de profondeur sont corrélés au maximum du développement d'un écosystème de type mangrove, chronologiquement relié à la transgression nouakchottienne autour de 6 à 5.000 ans BP. L'organisation actuelle des sols, la distribution des sédiments et l'évolution de la végétation dans les forages doit nous permettre de reconstituer l'évolution paléoenvironnementale du géosystème, actuellement continental de type fluvio-deltaïque, au cours des derniers 7.000 ans. Les analyses sédimentologiques et pédologiques classiques retracent les conditions de dépôt ; les datations au radiocarbone et les traceurs isotopiques ( $\delta^{13}\text{C}$  et  $\delta^{34}\text{S}$ ) valident efficacement la transition majeure observée pour cette période.

Les premiers résultats font apparaître que les niveaux d'accumulation de matières organiques dans les forages correspondent à des valeurs  $\delta^{13}\text{C}$  et de C/N caractéristiques. Ils montrent une évolution progressive d'un environnement de mangrove vers l'environnement continental actuel après la transgression nouakchottienne. La mise au point méthodologique du soufre ( $^{34}\text{S}$ ) a été développée pour caractériser la dynamique particulière du soufre dans le milieu de la mangrove. La variation du signal isotopique dans les forages correspond bien à celle observée précédemment. Une nouvelle campagne de forages a été réalisée pour vérifier les observations et les résultats déjà obtenus et aussi permettre de collaborer avec une équipe de palynologues qui travaillent dans le cadre d'un programme d'études sur le "Dahomey Gap".

Ballouche, A., Akoègninou, A., Neumann, K., Salzmann, U., & Sowunmi M. A., *Berichte des Sonderforschungsbereichs*, 15, 268-270, (2000).

Deisnes, P., In *"Handbook of Environmental Isotopic Geochemistry 1 - The Terrestrial Environment"*, 329-406, (1980).

Lang, J., Anthony, E. J., & Oyédé, L. M., *Quaternary International*, 29-30, 31-39, (1995).

Lézine, A.-M., *Bull. Soc. géol. France*, 167 (6), 743-752, (1996).

Mitchell, M. J., Krouse H. R., Mayer, B., Stam A. C., & Zhang, Y. In Kendall C. & McDonnell J. J. (Eds) *"Isotope tracer in catchment hydrology"*, 489-518.

Tyson, R. V., *Sedimentary Organic Matter: Organic Facies and Palynofacies*, (1995).

## 2. Utilisation des isotopes du soufre ( $^{34}\text{S}$ ) pour la caractérisation des matières organiques : application à l'étude des formations sédimentaires de la vallée de Sô-Ouémé, Sud Bénin

Jean LEVEQUE

The geochemical (organic carbon, natural  $^{13}\text{C}$  and  $^{34}\text{S}$ ) study of the sedimentary formations found in the deltaic area of the Sô River (Benin, Western Africa) showed that the evolution of their organic matters has been linked to the overall paleoenvironmental parameters of the West African coast for 7,000 years BP. The studied zone is situated in the coastal sedimentary basin of Benin in the deltaic area of the Ouémé-Sô rivers which supply lake Nokoué to the North of Cotonou, the capital city. A series were drilled and sink to a depth of four or even six meters. Several stages of organic matter accumulation can be observed in these borings which show a transition from sea facies to continental facies. In the sampled cores, the delta  $^{13}\text{C}$  values versus C/N ratios of the total sedimentary organic matter define three different groups covering the entire range of carbon isotope ratios observed for the  $\text{C}_3$  and  $\text{C}_4$  plants. In the upper and middle part of the sedimentary column, the delta  $^{13}\text{C}$  values of the organic matter is predominantly derived from  $\text{C}_4$  plants. The third group found in the bottom of the deeper core is characteristic of  $\text{C}_3$  plants which can be related to a mangrove ecosystem.  $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$  isotopic ratios measured in the bulk sample are mainly controlled by a sulfate signature in the upper and middle part of the core (seawater and pedogenetic sulfates). In the lower part of the sequence, delta  $^{34}\text{S}$  values are slowly decreasing with a maximum negative value revealing the occurrence of sulfides such as pyrite ( $\text{FeS}_2$ ).

The occurrence of sulfate reduction producing sedimentary pyrite take place under three main conditions : organic matter as sulfur reservoir, free iron phases fixed as iron sulfide and bacterial activity producing the sulfate reduction (*Desulfovibrio*, *Desulfatomaculum*). Such conditions are observed (Viellefond J., 1982) in soils developed in the mangrove ecosystems during pedogenetic processes. The correlation between isotopic changes of carbon and sulfur ratios ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ,  $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ ) as well as changes of C/N ratios, show that the great accumulation of organic matter in depth is probably linked to a mangrove swamp paleoenvironment. Carbon dating, allowed to establish that these levels of organic accumulation took place about 6,000 years BP. The Holocene transgression is recognized as the major transition in this sedimentary recording. The disappearance of this mangrove swamp probably resulted from the blocking of the offshore sandy bars of Cotonou due to the nouatchoktian maximum transgression.

### 3. Le carbone organique dans les sols sous Douglas (*Pseudotsuga menziesii*) après coupe forestière dans le Haut Beaujolais

Florence ROUX

La gestion durable des écosystèmes forestiers s'intéresse à la conservation de la fertilité des sols. Cette dernière est liée aux types d'essences utilisés ainsi qu'aux techniques de récoltes et de gestion des résidus de plus en plus mécanisées. L'étape de la coupe à blanc a été beaucoup étudiée et les données de la littérature montrent qu'elle peut avoir des effets néfastes sur la fertilité des sols à long terme (Olsson, et al. 1996 ; Pennock and Van Kessel 1997). Les matières organiques constituent un des supports essentiels de la fertilité des sols, mais leur devenir ainsi que leur rôle précis restent encore mal connus.

C'est pourquoi ce travail s'est intéressé au devenir des matières organiques dans les compartiments solides (litières et sols) et liquides (solutions de sol) sur une période de deux ans après une phase de coupe forestière. Le site d'étude est une parcelle de Douglas des Monts du Beaujolais, coupée à blanc en novembre 1998 à l'âge de 68 ans et replantée en Douglas en avril 99.

L'emploi d'engins pour la coupe et l'andainage a provoqué un tassement en surface les premiers mois suivant la coupe. Les stocks de litières diminuent après la coupe mais les produits de dégradation n'alimentent pas les stocks de C organique des sols. La biomasse microbienne carbonée augmente en surface entre avril et octobre 2000, suggérant une bonne "adaptation" aux nouvelles conditions de vie générée par la coupe. L'observation des variations du signal isotopique  $\delta^{13}\text{C}$  mesuré dans les solutions de sol (gravitaires et capillaires) a permis de mettre en évidence l'existence de variations saisonnières du  $\delta^{13}\text{C}$ , particulièrement remarquables pour les solutions gravitaires prélevées à 15 cm de profondeur. Ces variations restent inexplicables mais des hypothèses peuvent être avancées, concernant par exemple le fractionnement microbien. Les variations isotopiques devront être modélisées selon deux approches : une approche moléculaire pour expliquer les valeurs isotopiques globales et une approche fonctionnelle pour expliquer les variations saisonnières du signal. La mesure des paramètres globaux (stocks de C,...) devra être complétée. Il serait intéressant de revenir sur le site dans quelques années afin d'observer l'évolution du compartiment organique à plus long terme. Il faut toutefois noter l'absence de peuplements références toujours en place, ceux-ci ayant été détruits lors de la tempête de décembre 1999.

Olsson, B. A., Staaf, H., Lundkvist, H., Bengtsson, J., Rosen, K.. (1996). Carbon and nitrogen in coniferous forest soils after clear-felling and harvests of different intensity. Forest Ecology and Management 82: 19-32.

Pennock, P. J. and C. Van Kessel (1997). Clear-cut forest harvest impacts on soil quality indicators in the mixedwood forest of Saskatchewan, Canada. Geoderma 75: 13-32.

#### 4. Variabilité du $\delta^{13}\text{C}$ du carbone inorganique dissous dans les eaux d'écoulement : équilibre isotopique avec la phase gazeuse ou non?

Philippe AMIOTTE SUCHET

Le rapport des isotopes stables du carbone en abondance naturelle ( $\delta^{13}\text{C}$ ) constitue un outil séduisant pour les recherches qui visent à suivre les transferts de carbone dans l'environnement. Pour ce qui est des transferts de carbone inorganique dissous (CID) dans les hydrosystèmes continentaux, la méthode est moins simple qu'il n'y paraît. Il existe deux sources principales de CID dans les eaux continentales: i) l'oxydation de la matière organique des sols qui produit du  $\text{CO}_2$  ( $\delta^{13}\text{C}$  de  $-24$  à  $30\text{‰}$  pour des plates en C3) se dissolvant partiellement dans les eaux de percolation, ii) la dissolution des minéraux carbonatés ( $\delta^{13}\text{C}$  de  $-2$  à  $+2\text{‰}$  pour des carbonates marins). Les signatures isotopiques, très différentes au départ, sont rapidement modifiées par les fractionnements et les échanges isotopiques entre les différentes phases (gazeuse ou dissoute) et des différentes formes ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ) du carbone inorganique. Les équilibres qui contrôlent ces échanges et ces fractionnements sont bien connus et sont contrôlés par la température. Cependant, les mesures réalisées sur les grands fleuves comme sur les petits ruisseaux montrent que le  $\delta^{13}\text{C}$  du CID ( $\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$ ) varie fortement (de  $0$  à  $-18\text{‰}$ ) mais généralement sans respecter les conditions d'équilibre.

Les hydrosystèmes fluviaux étant généralement très complexes, tant du point de vue des sources que des processus de transformation du CID, on a étudié les variations spatiales et temporelles du  $\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$  dans les eaux d'un petit bassin versant sur roche silicatées (le bassin versant du Strengbach dans les Vosges), dans lequel la matière organique des sols et le  $\text{CO}_2$  atmosphérique constituent la seule source de carbone. Spatialement, le signal isotopique est très variable (de  $-12\text{‰}$  dans le ruisseau à  $-22\text{‰}$  dans les sources en moyenne). Dans les sources, le  $\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$  est à l'équilibre avec le  $\text{CO}_2$  des sols et varie saisonnièrement de  $-24\text{‰}$  en hiver à  $-20\text{‰}$  en été. Ces variations semblent contrôlées par le fractionnement isotopique induit par la diffusion du  $\text{CO}_2$  dans les pores du sol. Ces variations saisonnières ne se retrouvent pas dans le ruisseau où le  $\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$  semble refléter un équilibre moléculaire et isotopique partiel du CID avec le  $\text{CO}_2$  atmosphérique.

Amiotte Suchet P., Aubert D., Probst J.L., Gauthier-Lafaye F., Probst A., Andreux F. and Viville D. (1999) -  $\delta^{13}\text{C}$  pattern of dissolved inorganic carbon in a small granitic catchment: the Strengbach case study (Vosges mountains, France). *Chemical Geology*, 159, 129-145.

Amundson R., Stern L., Baisden T and Wang Y. (1998) – The isotopic composition of soil and soil-respired  $\text{CO}_2$ . *Geoderma* 82, 83-114.

## 5. Traçage isotopique naturel du carbone organique dissous dans des petits bassins versants du Morvan

**Nathalie LINGLOIS**

Plusieurs études récentes se sont intéressées à l'origine et à la distribution de formes du carbone. Ainsi, le carbone inorganique dissous (CID) a été bien étudié mais beaucoup de questions subsistent encore sur les sources et le devenir du carbone organique dissous (COD). Les relations entre la composition du couvert végétal et la nature des composés organiques dissous et plus particulièrement le passage des composés solubles de la litière à l'exutoire du bassin versant sont encore méconnues. La source principale du COD dans des eaux superficielles non polluées est le lessivage de la matière organique du sol et les concentrations varient entre 1 et 12 mg/l.

Dans le Morvan, les changements d'occupation du sol comme la plantation de résineux ou la mise en friche de parcelles induisent des modifications de la qualité des eaux. Des mesures hydrologiques et physico-chimiques se sont succédées pendant deux ans sur quatre petits bassins versants à végétation contrastée (feuillus et résineux).

Les variations saisonnières des concentrations de COD sont significativement différentes en fonction du couvert végétal. Les valeurs sont plus élevées dans les eaux des bassins versants sous feuillus (moyenne=3,8 mg/l) que dans celles des bassins versants de résineux (moyenne=1,6 mg/l) et la plus forte disparité des teneurs apparaît en automne. Des résultats semblables sont obtenus pour les concentrations de nutriments (N et P).

Dans les profils de sols sur ces bassins, un enrichissement typique en  $^{13}\text{C}$  de la matière organique du sol est observé avec la profondeur. Dans tous les ruisseaux, les mêmes tendances sont observées avec une variabilité moyenne en  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$  de  $-29,6$  à  $-27\text{‰}$ . Les valeurs de  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$  sont toujours plus faibles de 1 à 3 unités delta par rapport à celles de la matière organique quelque soit le type de végétation. Pendant la crue hivernale, les valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$  sont supérieures d'environ 0,5 unité delta aux valeurs moyennes. Cette matière organique soluble est modifiée et peut être le résultat à la fois un lessivage plus intensif du sol et/ou d'un drainage accru de réservoirs plus anciens de COD.

Trois paramètres principaux semblent contrôler les différences significatives de  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$  dans les eaux superficielles : le couvert végétal, la dynamique de minéralisation et la production de matière organique. Dans cette optique, les valeurs de  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$  sont comparées avec celles observées dans la végétation (litière, arbre, herbacée) et dans les solutions de sol obtenues par extraction à faible pression.

Des développements géochimiques et isotopiques peuvent être envisagés afin de relier ces variations isotopiques du COD total avec ceux des nutriments et des composés organiques en utilisant les techniques de détermination moléculaire sur les lipides et sur les acides humiques et fulviques.

## **6. Modélisation des émissions de N<sub>2</sub>O par les sols à l'échelle de la parcelle agricole**

**Catherine HENAULT**

Nous présenterons le modèle NOE, modèle prédictif des émissions de N<sub>2</sub>O par les sols à l'échelle de la parcelle agricole, sa structure ainsi que les travaux de validation.

## 7. Influence du pH sur les propriétés des sols

Annie PERNES-DEBUYSER

Les sols du Nord de la France sont constitués de loess éoliens d'origine quaternaire. Leur évolution pédogénétique va dans le sens d'une acidification. Une partie très importante de ces sols limoneux sont actuellement en culture. Selon Jamagne (1973) ces sols cultivés sont décarbonatés, mais gardent une garniture cationique essentiellement calcique et un pH supérieur à 6,5 par l'entretien des amendements basiques. Or l'intensification des pratiques culturales, les conditions climatiques (pluies de pH acide), l'extension des zones forestières sont autant de facteurs d'évolution à court terme des sols dans le sens de leur acidification. L'évolution des sols peut être d'ordre physico-chimique : changement de pH, désaturation en cations, aluminisation, mais aussi d'ordre physique et ce, en relation avec des changements de constitution ou d'environnement géochimique. Les dispositifs de longue durée sont des expérimentations importantes pour répondre à ces questions car ils permettent de porter un diagnostic sur les évolutions à notre échelle humaine et de définir des outils de suivis de la qualité des sols. Dans l'expérimentation de longue durée des 42 parcelles, nous avons pu étudier l'influence d'engrais ou d'amendement sur les propriétés des sols. Après 70 ans de pratiques, les parcelles se sont différenciées sur le plan de leur état physico-chimique (pH, CEC, cations &) tout en restant homogènes au niveau de leurs constituants (texture, MO &). Les engrais ammoniacaux conduisent à des parcelles très acides, à faible capacité d'échange effective (CECE), essentiellement saturée en aluminium échangeable. A l'opposé les parcelles recevant des traitements basiques, ont un pH tamponné à 8,2 avec une CECE doublée par rapport aux parcelles acides, saturée par du calcium échangeable. Ces différents états physico-chimiques se répercutent sur les propriétés physiques des sols. L'état de surface des parcelles acides se dégrade alors qu'il reste préservé dans les parcelles basiques. Celles-ci ont une vitesse de réhumectation plus rapide et sont moins sensibles à la désagrégation lors d'une immersion dans l'eau.

Pernes-Debuyser A. & Tessier D., 2001. *Influence du pH sur les propriétés des sols: l'essai de longue durée des 42 parcelles à Versailles*. Colloque franco-québécois: La pluridisciplinarité dans les problèmes de l'environnement: les interactions Air Sol Eau. Québec, mars 2001. 2, p. 141-155. (Article soumis à publication dans la Revue des Sciences de l'Eau) Pernes-Debuyser A. & Tessier D., 2001. *Influence de matières fertilisantes sur les propriétés physiques des sols: cas des 42 parcelles de l'INRA à Versailles*. Colloque l'acidification des sols: origine, approche, enjeux et maîtrise. Versailles, avril 2001. *comm. oral.* p. 21-22.

# Pesticides

## **1. Transfert de l'oryzalin, du diuron et de ses métabolites majeurs en colonne de sol structuré. Exemple de trois sols viticoles de Vosne-Romanée.**

**David LANDRY, Sylvie DOUSSET & Francis ANDREUX**

L'objectif de ce travail était de comparer la mobilité de deux herbicides de pré-levée, le diuron et l'oryzalin, dans trois types de sols viticoles, sélectionnés selon une topolithoséquence, à Vosne-Romanée. La distribution de ces sols, depuis le sommet vers le bas de pente, présente une rendzine et deux sols bruns calcaires, dont les teneurs en carbone organique sont respectivement de 2,24%, 1,21% et 1,66%.

Des études en colonne de sol structuré (25 x 20 cm de diamètre interne) ont été mises en place en laboratoire, afin d'évaluer les potentialités de migration de ces deux produits phytosanitaires (et des produits de dégradation du diuron) vers les couches profondes du sol et vers les nappes phréatiques .

En fin d'expérience, 3,2 %, 11,8 % et 18,8 % des quantités de diuron appliquées sont récupérés respectivement dans les percolats de la rendzine et des sols bruns calcaires de mi-pente et de bas de pente. En ce qui concerne l'oryzalin, 0,2 %, 4,9 % et 3,7 % des quantités appliquées de cet herbicide sont retrouvées dans ces mêmes sols respectifs.

## 2. Etude de la dégradation de l'isoxaben dans le sol

**Sandra ARRAULT**

L'isoxaben est un herbicide de prélevée, de la famille des benzamides, commercialisé par Dow AgroSciences, utilisé sur de nombreuses cultures (céréales, vignobles, etc.). Suite à des problèmes d'efficacité observés sur certains sites traités annuellement avec ce pesticide, une étude préliminaire au laboratoire de Microbiologie des Sols a été menée. Elle a permis de conclure que l'isoxaben subissait, suite à une augmentation de la capacité de la microflore tellurique à le minéraliser, une biodégradation accélérée.

Les objectifs de cette thèse ont été doubles. Le premier, très appliqué, a été d'expérimenter différentes solutions afin de contrôler le potentiel dégradant des sols. Des essais ont donc été mis en place en Europe, sur des sols céréaliers, de vignobles ou non cultivés. L'intérêt des traitements en alternance tous les deux ans et du travail du sol a ainsi été démontré.

Le second objectif, plus fondamental, a concerné l'isolement et la caractérisation des populations microbiennes impliquées dans la dégradation de l'isoxaben. Des micro-organismes dégradant cet herbicide ont ainsi été isolés depuis différents sols, traités au champ et au laboratoire. En culture pure, ces isolats ont produit à partir de l'isoxaben, un métabolite identifié comme étant le 5-amino-3-(1-ethyl-1-methylpropyl)-isoxazole. L'inoculation d'un sol avec l'une de ces souches a résulté en une augmentation de la dégradation de l'herbicide. Les homologies des séquences d'ADNr 16S et des tests phénotypiques, entre des souches de référence et les isolats, ont suggéré que ces derniers étaient des actinomycètes appartenant au genre *Microbacterium*. En outre, les souches dégradant l'isoxaben ont semblé également favoriser la minéralisation du diuron dans le sol. Enfin, des études complémentaires ont permis de constater les effets du pH, de la température, des apports organiques sur l'activité dégradante des isolats.

### **3. Etude de l'impact de produits phytosanitaires (atrazine et nicosulfuron) sur la taille et la structure de la microflore des sédiments.**

**Laurent CORNET**

Ces dernières décennies, de nombreux sites aquatiques ont été contaminés par des pesticides. Les sédiments, indispensables au développement de la vie dans l'eau, sont très fragiles. C'est pourquoi, aujourd'hui, on s'intéresse aux effets que peuvent avoir les molécules phytosanitaires sur la taille et la structure de la microflore des sédiments.

Notre étude a permis de déterminer les techniques les mieux adaptées aux sédiments afin d'évaluer l'impact de pesticides sur la communauté bactérienne des sédiments.

La méthode MPN (Meilleur Nombre Probable) avec l'interprétation par la table de Cochran, a présenté les meilleurs résultats pour dénombrer les bactéries anaérobies des sédiments. L'étude de la structure de la population bactérienne des sédiments a été réalisée avec des outils de biologie moléculaire. Parmi tous les outils moléculaires testés, les meilleurs résultats ont été obtenus en couplant le kit d'extraction d'ADN UltraClean Soil DNA kit (MoBio Laboratoire) avec les méthodes d'analyses RISA (Ribosomal Intergenic Spacer Analysis) et ARDRA (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis).

Ainsi, nous avons évalué l'effet des pesticides sur la taille de la microflore révélant que l'atrazine a un léger effet dépressif contrairement au nicosulfuron qui la favorise. Cette tendance a été confirmée par l'analyse moléculaire qui a montré d'une part l'apparition de phylotypes supplémentaires pour les mésocosmes traités avec des produits phytosanitaires et d'autre part des différences d'intensité pour un même phylotype entre les mésocosmes témoins et traités avec l'atrazine ou le nicosulfuron.

#### **4. Effet du maïs sur la capacité du sol brun lessivé de la Bouzule à dégrader l'atrazine**

**Séverine PIUTTI**

L'effet d'une culture de maïs sur la dégradation microbienne de l'atrazine dans un sol a été étudié lors d'un essai en serre constitué de pots contenant du sol mis en présence ou non de maïs et/ou d'atrazine. A la fin du cycle cultural, un effet plante très significatif a été mis en évidence sur la biomasse microbienne. De plus, les sols ayant reçu de l'atrazine lors du cycle cultural présentent, dans un test réalisé au laboratoire, une minéralisation de l'atrazine significativement plus rapide sans corrélation avec la biomasse microbienne. La structure des communautés microbiennes analysée par RISA sur l'ADN extrait directement du sol est modifiée en sol cultivé par comparaison au sol nu. Par contre le traitement avec de l'atrazine en serre ne la modifie pas. Une quantification de la présence du gène *atzC* dans les échantillons a été menée par PCR gicogne compétitive. Ce gène est initialement présent en plus grande quantité dans les sols cultivés et est détecté de façon transitoire après le retraitement avec de l'atrazine pour atteindre un maximum après 4 jours en sols cultivés et 7 jours en sol nu. Finalement il apparaît que le maïs stimule la biodégradation de l'atrazine dans ce sol en assurant une meilleure survie des communautés dégradantes par rapport au sol nu.

## **5. Isolement et caractérisation physiologique et moléculaire de consortia bactériens dégradant l'atrazine à partir de sol ou de rhizosphère de maïs**

**Isabelle WAGSCHAL**

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'impact de la culture de maïs sur la structuration des communautés bactériennes du sol dégradant l'atrazine. Dans ce but, différentes conditions ont été testées: sol nu, sol nu traité à l'atrazine, sol cultivé avec du maïs, et sol cultivé avec du maïs et traité à l'atrazine. Dans chaque cas, la biomasse microbienne a été mesurée, montrant une augmentation de la biomasse du sol planté, mais pas d'effet significatif du traitement à l'atrazine.

Des suspensions-dilutions de ces sols, étalées sur milieu gèlosé, ont permis l'isolement de consortia bactériens métabolisant l'atrazine. Leur activité de dégradation a été par la suite vérifiée par analyse HPLC, en suivant la disparition d'atrazine.

Afin d'évaluer l'impact de la culture de maïs sur la structure des consortia bactériens dégradant l'atrazine, nous avons analysé par ARDRA (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis) la région 16S et par RISA (Ribosomal Intergenic Spacer Analysis) la région intergènique de 16S et 23S de l'opéron ribosomique des consortia bactériens. Ces deux types d'analyses ont montré une grande diversité des genres bactériens dégradant l'atrazine avec notamment une grande divergence au niveau des espèces.

Le test statistique de Jaccard conduit sur les analyses ARDRA a séparé sur dendogramme d'homologie de profil deux groupes bactériens correspondant au sol nu et au sol planté, respectivement. Les analyses RISA semblent montrer un effet similaire, mais nettement moins marqué, étant donné la complexité des profils observés.

Les gènes *atz* A, B, C et *trz* D codant des enzymes impliquées dans le métabolisme de l'atrazine ont été détectés: i) par hybridation sur les colonies bactériennes dégradantes, et ii) par amplification PCR des gènes de dégradation suivie d'un transfert des produits PCR sur membrane et d'une hybridation. Les résultats ont montré que les consortia bactériens présentent des combinaisons de gènes très différentes. De plus, ils laissent présumé d'un polymorphisme de longueur et de séquence pour ces gènes.

## **6. Utilisation de l'isotope $^{13}\text{C}$ pour quantifier le transfert du pentachlorophénol dans les systèmes sol-eau**

**Sylvie DOUSSET, Jean LEVEQUE., Sébastien JAULT., Marie-Jeanne MILLOUX. & Francis ANDREUX**

Dans l'environnement, les quantités de pesticides lessivées sont contrôlées principalement par les processus de rétention avec les constituants du sol, et la (bio)dégradation. Le temps de transfert de ces molécules est généralement mesuré au laboratoire à l'aide de molécules radioactives, essentiellement des molécules marquées au  $^{14}\text{C}$ . L'objectif de ce travail est d'évaluer l'aptitude et la précision de cette méthode alternative utilisant une molécule marquée au  $^{13}\text{C}$  comme traceur d'un polluant organique.

Le transport de polluants organiques a été étudié en colonnes de sol au laboratoire, en utilisant le pentachlorophénol (PCP) comme composé modèle. La teneur en carbone organique et le ratio  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  ont été mesurés à l'aide d'un analyseur élémentaire couplé à un spectromètre de masse, dans les 2 niveaux de la colonne de sol (0-3 cm, 3-6 cm) et dans les percolats. A partir de ces données, le bilan de masse du carbone provenant du pentachlorophénol a été réalisé; et les quantités de résidus de PCP ont été calculées dans chacun des compartiments du système sol-eau. Plus de 80 % du PCP appliqué ont été retenus dans le niveau de surface de la colonne de sol. Environ 20 % ont été transportés et redistribués dans le niveau inférieur, et moins de 1 % a été récupéré dans les percolats.

L'utilisation de molécules marquées au  $^{13}\text{C}$ , comme méthode alternative à l'utilisation de composés radioactifs marqués au  $^{14}\text{C}$ , peut donc permettre l'étude du devenir des polluants organiques dans les sols et les eaux en conditions de plein champ.

Lichtfouse E, Budzinski H.  $^{13}\text{C}$  analysis of molecular organic substances, a novel breakthrough in analytical sciences. *Analisis* 1995; 23: 369-372.

Richnow HH, Annweiler E, Koning M, Lüth JC, Stegmann R, Garms C, Francke W, Michaelis W. Tracing the transformation of labelled [1- $^{13}\text{C}$ ]phenanthrene in a soil bioreactor. *Environ Pollut* 2000; 108: 91-101.

Richnow HH, Eschenbach A, Mahro B, Seifert R, Wehrung P, Albrecht P, Michaelis W. The use of  $^{13}\text{C}$ -labelled polycyclic aromatic hydrocarbons for the analysis of their transformation in soil. *Chemosphere* 1998; 36(10): 2211-2224.

# Écologie Microbienne

## **1. DNA extraction from soils: old bias for new microbial diversity analysis methods**

**Fabrice MARTIN-LAURENT, Laurent PHILIPPOT, Stéphanie HALLET, Rémi CHAUSSOD, Jean-Claude. GERMON & Guy SOULAS**

The impact of three different soil DNA extraction methods on bacterial diversity was evaluated using PCR based 16S-rDNA analysis. DNA extracted directly from three soils showing contrasted physico-chemical properties was subjected to ARDRA and RISA analysis. The obtained RISA patterns revealed clearly that both phylotype abundance and composition of the indigenous bacterial community are dependent on the DNA recovery method used. In addition, this effect was also shown in the context of an experimental study aiming to estimate the impact on soil biodiversity of the application of farmyard manure or sewage sludge onto a monoculture of maize for 15 years.

## **2. La PCR compétitive comme un outil pour détecter et quantifier les gènes *atz C*, 16S et 18S dans des échantillons d'ADN extraits directement de sol traité avec l'atrazine**

**Fabrice MARTIN**

Nous étudions l'impact des pratiques agricoles, notamment des traitements phytosanitaires, sur la microflore du sol. Jusqu'à présent, les études conduites pour évaluer l'impact des produits phytosanitaires consistaient bien souvent à mesurer (i) des paramètres globaux tels que la biomasse microbienne, le dénombrement de la microflore bactérienne totale et/ou dégradante et (ii) des paramètres liés à l'activité microbienne, telle que, par exemple, la minéralisation d'une molécule phytosanitaire.

Dernièrement, l'adaptation de techniques moléculaires basées sur l'extraction et l'amplification par réaction de polymérisation en chaîne (PCR) des acides nucléiques du sol offre de nouvelles perspectives pour étudier les micro-organismes telluriques. Des techniques moléculaires (DGGE, SSCP ou RISA) permettent notamment de suivre l'évolution de la structure et de la diversité microbienne tellurique en réponse à un stress. Dernièrement, le développement des techniques de PCR compétitive (c-PCR) et quantitative (q-PCR) permettent de plus de quantifier spécifiquement un gène et, par conséquent, une communauté fonctionnelle dans un échantillon environnemental.

Le sujet de mon exposé portera sur les travaux que nous menons actuellement pour développer la PCR compétitive permettant de détecter et de quantifier les gènes de l'ADNr 16S, 18S et *atz C* dans des échantillons de sol traités ou non avec l'atrazine. Nous verrons ainsi que les c-PCR 16S et 18S fournissent des informations supplémentaires et complémentaires de la mesure de la biomasse microbienne, et que la c-PCR *atz C* permet d'expliquer, quant à elle, la minéralisation rapide de l'atrazine suite à un traitement du sol avec cette molécule.

### **3. La dénitrification et la production de N<sub>2</sub>O dans la rhizosphère du maïs : effet sur l'activité et sur les populations bactériennes impliquées.**

**Dominique CHENEBY**

La dénitrification est considéré comme le principal mécanisme responsable de la formation de N<sub>2</sub>O sous nos climats. La rhizosphère constitue un milieu réputé favorable à la dénitrification ; nous cherchons à savoir si la présence d'une plante peut modifier la capacité de la microflore à produire et réduire N<sub>2</sub>O. Une comparaison des activités liées à la dénitrification et des populations bactériennes correspondantes est actuellement engagée sur un sol support d'une culture de maïs et sur le même sol maintenu sans plante. Quelques résultats préliminaires seront présentés.

#### **4. Stress environnementaux : Recherche de marqueurs des états physiologiques chez les bactéries**

**Alain HARTMANN, Sylvie MAZURIER, Cécile REVELLIN, Jean-Jacques GIRAUD & Gérard CATROUX**

Inoculants et inoculation des graines ou des sols, introduction de microorganismes dans l'environnement, Modèle *Bradyrhizobium japonicum*, inoculation du soja, résistance au stress osmotique et adhésion

##### **Objectifs**

Recherche de marqueurs moléculaires et (ou) physiologiques des états de stress physique ou chimique chez des bactéries

##### **Méthodes utilisées**

1) Approche protéomique différentielle (électrophorèse bidimensionnelle des protéines, comparaison entre bactéries soumises au stress ou non)

De la protéine au gène : screening de la banque génomique de G49 à l'aide de sondes ou amorces déduites des séquences peptidiques

2) Approche génomique : utilisation de transposons "promoter probe" expression du gène rapporteur à partir des promoteurs indigènes de la souche étudiée, banque de mutants et screening. (Sylvie Mazurier)

3) Analyse transcriptionnelle des gènes mis en évidence

Notion de marqueurs moléculaires des états physiologiques (phase de latence, phase stationnaire, etc.). Outils de travail en microbiologie prévisionnelle.

RT-PCR quantitative

4) Cytométrie en flux (Cécile Revellin)

Dénombrement et viabilité des microbes dans les inoculants et dans les sols, liaison avec les stress. Utilisation de fluorochromes tels que SyberGreen, IP iodure de propidium, etc

##### **Résultats acquis :**

Spots protéiques exprimés ou surexprimés en cas de stress osmotique (PEG 20%, NaCl 150 mM) chez *B. japonicum*

##### **Attendus**

Marqueurs du stress osmotique, de l'état de famine, de la présence de composés toxiques issus des graines chez *B. japonicum*. Optimisation de la conservation des inoculums, et limitation de la mortalité des bactéries lors de l'inoculation.

# Métaux et Qualité des Sols

# 1. La gestion des milieux naturels, un exemple de diagnostic écologique : la Gravière de Faverney (Haute-Saône)

**Christian CHAUVIN**

Une étude nationale a été initiée par L'Union Nationale des Producteurs de Granulats (UNPG), visant à établir un bilan de l'intérêt écologique des zones humides issues de l'exploitation de granulats en France. La CAE a assuré ces travaux pour un des dix-sept sites retenus : les gravières de Faverney, en Haute-Saône.

Le programme visait plusieurs objectifs : **évaluer** l'intérêt écologique des carrières en eau, **comprendre** les paramètres et les mécanismes déterminant le devenir écologique des sites, **formaliser** des préconisations aux exploitants pour leur remise en état écologique.

## Analyse de l'environnement du site :

Nécessaire à l'appréciation du rôle de la gravière dans son environnement, elle est fondée sur la définition d'un district biogéographique. Il est apparu comme une entité morphogéologique alluviale d'environ 30 km<sup>2</sup>, présentant une grande diversité de milieux d'intérêt écologique parfois marqué.

## Analyse du site :

**La qualité de l'eau**, montre un niveau globalement eutrophe.

**L'intérêt écologique actuel** réside dans la très grande diversité des milieux qui le composent : formations boisées, pelouses sur sables, prairies humides et mésophiles, mégaphorbiaies, ceintures aquatiques, grèves exondées tardivement. Ce dernier habitat est le plus remarquable, accueillant une végétation pionnière peu diversifiée mais à très forte valeur patrimoniale et une population de limicoles diversifiée et originale.

**L'inventaire** a permis de dénombrer et de cartographier 3 habitats naturels d'intérêt communautaire, 2 espèces végétales protégées en Franche-Comté et 18 considérées comme rares au niveau régional. 130 espèces d'oiseaux migrateurs et hivernants ont été recensées, dont 28 inscrites à la Directive Oiseaux, 49 en liste rouge, et 15 considérées comme régionalement rares. 51 espèces nichent sur le site, dont 4 inscrites à la Directive Oiseaux et 8 en liste rouge.

Préconisation de gestion

Les points remarquables concernant d'une part la diversité écologique et d'autre part la présence d'habitats temporaires, la gestion préconisée s'oriente principalement vers le maintien ou l'augmentation de cette mosaïque : entretien des milieux jeunes et des stades pionniers (marnage), aménagement des berges pour permettre l'installation effective de ceintures de végétation aquatique, limitation de la végétation ligneuse pour améliorer et pérenniser l'intérêt écologique des habitats transitoires, encadrement des usages baignade et pêche.

## **2. Inventaire des Zones Humides de Bourgogne : méthodes et perspectives**

### **Dominique OBERTI**

La DIREN Bourgogne a élaboré un plan d'action en faveur des zones humides de Bourgogne en vue de compléter et de décliner les principales actions de niveau national. Ce programme comprend, dans une première phase, des actions visant à améliorer la connaissance en adoptant une démarche et une méthode d'inventaire fiable et transparente. Une deuxième phase, cadre du présent travail, doit aboutir à un premier état de la répartition des zones humides de Bourgogne, qui servira de référence pour l'analyse, la dynamique des écosystèmes humides et un document de référence pour l'exercice de la police de l'eau. Il s'intègre dans la politique nationale de préservation des zones humides (loi sur l'eau). Le produit visé consiste en un document cartographique sur le patrimoine des zones humides régionales à l'échelle 1/100.000. La démarche est fondée sur la reconnaissance des relations habitats naturels/conditions des milieux (sol notamment). Cette méthode permet une meilleure explication des contenus et également de mettre en évidence les principes fonctionnels de chaque zone humide. Elle s'est déroulée en plusieurs étapes, dans l'ordre logique suivant :

- > définition de la zone humide selon la juridiction actuelle (loi sur l'eau)
- > classification des habitats de zones humides
- > réalisation d'une typologie fonctionnelle appliquée aux zones humides régionales, avec caractérisation des petites régions naturelles de Bourgogne et modélisation de la distribution des zones humides à l'intérieur de chacune.

Cette méthode est transparente et transposable à d'autres régions. Les contours des zones humides sont établis en incluant les habitats naturels des milieux humides correspondant à la définition de la loi sur l'eau. Ce travail s'inscrit dans le plan national "Zones Humides", destiné avant tout à combler un besoin initial de connaissance du patrimoine des zones humides de la région Bourgogne.

### **3. Typologie prairiales et définition de bioindicateur du niveau d'engorgement des prairies et de la dépendance à l'eau des sols. Exemple du modèle renoncules prairiales.**

**François CHAMBAUD**

Les travaux de phytoécologie prairiales (vallées de la Saône, de la Loire et de l'Allier en Bourgogne) basés sur l'étude des relations sol/végétation, conduisent à préciser l'autoécologie des espèces (méthode des profils écologiques) selon des gradients hydrique et trophique. La distribution des renoncules prairiales des milieux humides à marécageux (espèces mésohygrophiles et hygrophiles) aux milieux sains à secs (espèce mésophiles à mésoxérophiles), est utilisée comme un indicateur biologique révélateur de la dépendance à l'eau des sols (REDUCTISOLS, REDOXISOLS, FLUVIOSOLS et BRUNISOLS réductiques ou rédoxiques, FLUVIOSOLS et BRUNISOLS à horizons réductiques ou rédoxiques...) et du niveau d'engorgement des prairies. Ce modèle trouve son application dans le diagnostic écologique des prairies et des habitats prairiaux. Il est transférable vers un public non spécialiste en botanique pour qui ces quelques espèces peuvent apporter des réponses techniques à leurs travaux (gestionnaires des milieux, pédologues, techniciens agricoles) dans le cadre de l'élaboration de CTE et le choix des MAE (parmi les listes du Plan de Développement Rural Régional ou après adaptation de celles-ci).

## 4. Un héritage de Pb - Apport de la géochimie isotopique à l'étude des paléo-environnements et des pollutions récentes

**Fabrice MONNA**

C'est seulement depuis le 1<sup>er</sup> janvier 2000 que les essences dites plombées ont été interdites en France. Cette mesure, qui tend à se généraliser dans toute l'Europe de l'Ouest, fait suite à plus de 30 ans d'études qui montrent les dangers du plomb pour la santé publique, et plus généralement ses effets nocifs sur la flore et la faune. Éliminer la principale source de pollution signifie-t-il écarter tout danger à long terme ? C'est malheureusement loin d'être sûr. En fait, il s'avère en fait que l'utilisation de ce métal a été intimement liée aux développements de notre civilisation, et que du fait, le plomb extrait par l'homme s'est largement répandu puis accumulé dans divers écosystèmes, tels que les sédiments, les tourbières, les glaces et les sols, depuis plus de 3 000 ans.

Aujourd'hui nous nous trouvons confrontés à deux problèmes fondamentalement différents : (i) identifier et réduire, dans la mesure du possible, les émissions actuelles en vue de répondre aux nouvelles exigences de l'Union Européenne qui fixe pour 2010 une limite de 0.5 µg de plomb par mètre cube dans l'atmosphère; (ii) identifier, quantifier et s'assurer de la stabilité de l'héritage que nos prédécesseurs nous ont légué.

Alors que la première partie de ce double challenge est largement prise en charge par les pouvoirs publics, fort peu d'études concernant la composante historique ancienne des émissions sont disponibles. L'objectif n'est pas simplement de dresser l'inventaire des quantités de métal stockées puisque l'établissement d'une exploitation minière s'accompagne généralement d'une intense déforestation de la zone pour répondre aux besoins en matières premières, et d'une modification profonde des pratiques agricoles environnantes. L'édification d'une communauté minière primitive va donc bouleverser considérablement l'écosystème dans lequel elle s'installe, mais aussi laisser des reliques qui peuvent perdurer jusqu'à nos jours. Nul doute que l'étude de tels environnements doit s'aborder de façon systématique en collaboration avec paléobotanistes et archéologues.

Pour répondre à toutes ces questions, le géochimiste dispose d'outils extrêmement performants : les isotopes. Dans le cas du plomb, son abondance isotopique va fournir des informations inaltérables quant à son origine, que ce soit sur des problèmes actuels ou passés. De plus, le signal isotopique du plomb s'avère beaucoup plus sensible que la seule mesure des concentrations pour identifier l'influence, même discrète, d'un signal anthropique. Combiné aux autres paramètres géochimiques, mais surtout aux mesures isotopiques du soufre et du carbone, nous voilà donc avec une batterie puissante d'outils capables d'extraire des informations, jusque dans les cachettes, qui pourront être confrontées aux données acquises par nos collègues archéologues et botanistes.

Le but de ce bref exposé est de montrer les capacités de la méthode isotopique sur des exemples variés, tous en cours de réalisation : utilisation des lichens comme bio-indicateurs de la qualité de l'air en zone minière et urbaine (Johannesbourg) et en zone volcanique (Etna) ; étude des paléo-environnements du Mont Beuverey (D.E.A. de Cédric Blanchot) et du Pays Basque (D.E.A. de Magali Tual).

## **5. Étude des sols du Haut – Ogooué au sud est du Gabon : Application à un projet de réhabilitation d'un site minier, le plateau manganésifère de Bangombé (Moanda)**

**Christian BOUPASSIA**

Dans la région minière du Haut-Ogooué, s'étendant sur 125 km<sup>2</sup> entre 13° et 13°30' de longitude Est et 1°15' et 1°45' de latitude Sud, le substratum dominant est une ampélite du précambrien moyen. Cette roche est porteuse de la minéralisation stratiforme, épaisse de 5 à 15 m, des gisements de manganèse de Moanda, dont l'essentiel de la production provient d'un des quatre plateaux minéralisés connus, le plateau Bangombé. Le recouvrement silico-argileux à pisolites ferrugineux, épais de 3 à 5 m et faiblement consolidé, est le produit de l'altération très poussée de cette ampélite manganésifère. Sans valeur marchande, ce matériau pisolitique est écarté avant exploitation du minerai, puis abandonné sous forme de monticules d'environ 10 m de haut. Sur les formations pisolitiques en place, se développe un sol ferrallitique acide dont l'horizon humifère peut atteindre 40 cm d'épaisseur. En revanche, sur les monticules, dont les plus âgés sont formés depuis 40 ans, la revégétalisation naturelle est très irrégulière.

La caractérisation pédologique du site, objet de la présente étude, repose sur la reconnaissance des profils types développés sur la roche-mère ampélitique et sur les roches-mères avoisinantes (grès et granite). Cette étude vise à comprendre le fonctionnement pédologique des systèmes en place et des systèmes remaniés, en combinant des approches physique (texture, porosité), minéralogique (argiles, oxyhydroxydes) et géochimique (distribution verticale et formes des éléments Al, Fe et Mn ; C et N organiques). Ces données visent notamment à mettre en évidence les possibles redistributions d'éléments métalliques dans les profils, en interaction ou non avec la matière organique.

La participation des organismes vivants aux processus d'altération et de transferts constitue un volet important du contexte général de cette étude. L'évaluation du potentiel agronomique des stériles de mines en vue d'une future revégétalisation (légumineuses et/ou graminées) devrait être envisagée parallèlement à la caractérisation ci-dessus, ainsi que des études de la microflore du sol, dans ce contexte biogéochimique très particulier. Ces études porteront plus particulièrement sur les mécanismes assurant la solubilisation biologique du manganèse et la mobilisation des nutriments par les plantes.

## **6. Effet d'applications répétées du sulfate de cuivre sur la taille et la structure des population de *Rhizobium leguminosarum***

**Sophie HACHAIR, Gisèle LAGUERRE & Rémi CHAUSSOD**

Le sulfate de cuivre a été largement utilisé en viticulture depuis 1885, ce qui s'est traduit par son accumulation dans le sol. L'effet de la contamination a été évalué sur la taille et la diversité des populations de *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* dans six sols du vignoble Bourguignon, correspondant à un gradient de teneurs en cuivre (30-330 mg de cuivre total par kg de sol). Le nombre de *Rhizobium* a été estimé pour chacun des échantillons de sol par la méthode du nombre le plus probable (Vincent, 1970). Les populations ont été caractérisées par analyse du polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP) des produits d'amplification de l'espace intergénique (IGS) de l'ADNr 16S-23S (Laguerre *et al.*, 1996).

Une importante décroissance du nombre de *Rhizobium* a été observée pour les sols les plus contaminés par le cuivre. Les types IGS très représentés dans le sol le moins contaminé (témoin) devenaient minoritaires dans les sols les plus contaminés par le cuivre, et à l'inverse, les types peu représentés dans le sol témoin devenaient minoritaires dans les sols très contaminés par le cuivre. Le cuivre semblerait donc avoir des effets à la fois quantitatif et qualitatif sur les populations de *Rhizobium* du sol. Par conséquent, *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* pourrait être utilisé pour évaluer les effets biologiques de la contamination par le cuivre.

## **7. Effet à long-terme des amendements organiques sur la qualité des sols : Approches géochimique et biologique**

**Corinne PARAT**

L'épandage de déchets organiques d'origine agricole, industrielle ou urbaine constitue l'une des alternatives possibles à la mise en décharge ou à l'incinération, apportant au sol une source supplémentaire de carbone et d'azote organiques. Si ces apports de matières organiques sont toujours positifs sur la biocénose des sols, ils sont parfois accompagnés de quantités variables d'éléments traces métalliques (ETM) tels que Cu, Cd, Zn, et Pb qui vont s'accumuler dans le sol. L'énergie de liaison de ces ETM avec les autres constituants du sol (matière organique, oxydes, ...) est généralement élevée, mais en cas de rétention prolongée, le devenir à moyen et long-terme de ces ETM n'est pas bien connu. À fortes concentrations, certains ETM peuvent présenter un danger pour les organismes vivants en modifiant la dynamique des communautés microbiennes et/ou les fonctions qu'elles exercent. Réciproquement, les populations microbiennes peuvent avoir un effet sur la mobilité et la biodisponibilité des ETM par modification de leur spéciation. La matière organique est susceptible de jouer un rôle protecteur vis-à-vis des micro-organismes en complexant les ETM, mais le devenir des ETM suite à la minéralisation de la matière organique est inconnu. Cette thèse consiste donc à étudier les interactions entre ETM, matière organique (MO) et activités biologiques, et leur conséquence en terme de biodégradabilité et de toxicité.

L'étude porte sur un essai agronomique de longue durée (Ambarès - Gironde) mis en place en 1974 et comportant quatre traitements (témoin, fumier 10 t/ha/an, boues 10 t/ha/an, boues 100 t/ha/2ans). La caractérisation des relations MO / ETM a été réalisée en mettant en œuvre des méthodes physiques (fractionnement granulométrique) et chimiques (extraction séquentielle). Le suivi de la qualité environnementale des sols a consisté à comparer l'aptitude des microbes à minéraliser la matière organique labile (MOL) dans les différents traitements.

L'étude de la distribution des ETM (Cd, Cu, Pb et Zn) montre que ces éléments ont une forte affinité pour les compartiments des oxydes de fer et de manganèse, et ce malgré les quantités de matière organique supplémentaire apportées 10 ans auparavant avec les boues ou le fumier.

Le premier bilan de la qualité des sols montre un effet positif des amendements avec des teneurs en MO, biomasse microbienne, et MOL supérieures à celles de la parcelle témoin. A moyen terme, la MOL s'avère être un indicateur intéressant de la qualité des sols puisqu'elle est directement reliée à l'état d'avancement du processus d'humification.

## 8. Molécules humiques, isotopes et métaux

Eric LICHTFOUSE

La structure des molécules organiques du sol peut révéler leurs différentes sources biologiques : bactéries, plantes, champignons, etc. (1). L'analyse isotopique de leur teneur en carbone 13 ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ), donne des informations sur leur dynamique (2). Après un exemple d'application de ces deux principes à l'étude de la dynamique des cires cuticulaires, un projet d'étude des interactions organo-métalliques sera abordé.

1. Fossiles moléculaires d'intérêt microbiologique, pétrolier, agronomique et environnemental. E. Lichtfouse. *L'Actualité Chimique* pp. 5-19, avril 2000.

2. Compound-specific isotope analysis (CSIA). Application to archaeology, biomedical sciences, biosynthesis, environment, extraterrestrial chemistry, food science, forensic science, humic substances, microbiology, organic geochemistry, soil science and sport. E. Lichtfouse. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **14**, 1337-1344, 2000.