

# Les micro-organismes des sols et leurs systèmes enzymatiques : acteurs de la biotransformation des contaminants et outils d'évaluation de leur écotoxicité

C. Mougin, N. Cheviron, M. Belkacem, J. Lebrun *et al.*

**UR0251 PESSAC**

<http://www-pessac.versailles.inra.fr>



**PeSsac**



ALIMENTATION  
AGRICULTURE  
ENVIRONNEMENT

**INRA**

# Objectifs de Pessac

- **Au plan fondamental**

Identifier, comprendre et prévoir les perturbations\* subies par l'écosystème sol en présence de polluants

\* écart au fonctionnement d'un état de référence

- **Au plan finalisé**

Contribuer à la proposition de pratiques durables de gestion des sols

- **Au plan méthodologique**

Développer des outils, des méthodes d'évaluation et de prévision ... adaptées à l'échelle d'étude : de la molécule au terrain

# Les plateaux techniques

- **Mesures physiques**

- Etude des constituants (diffraction RX, GL...)
- Microscopie électronique analytique (MEB, MET)
- Oedométrie

- **Analyse chimique (► LC2V / EGER)**

- Chimie minérale (SAA, ECZ, électrochimie, CHN, TOC...)
- Chimie analytique organique (UV-Vis, GC-MS<sup>2</sup>, HPLC, SFE...)

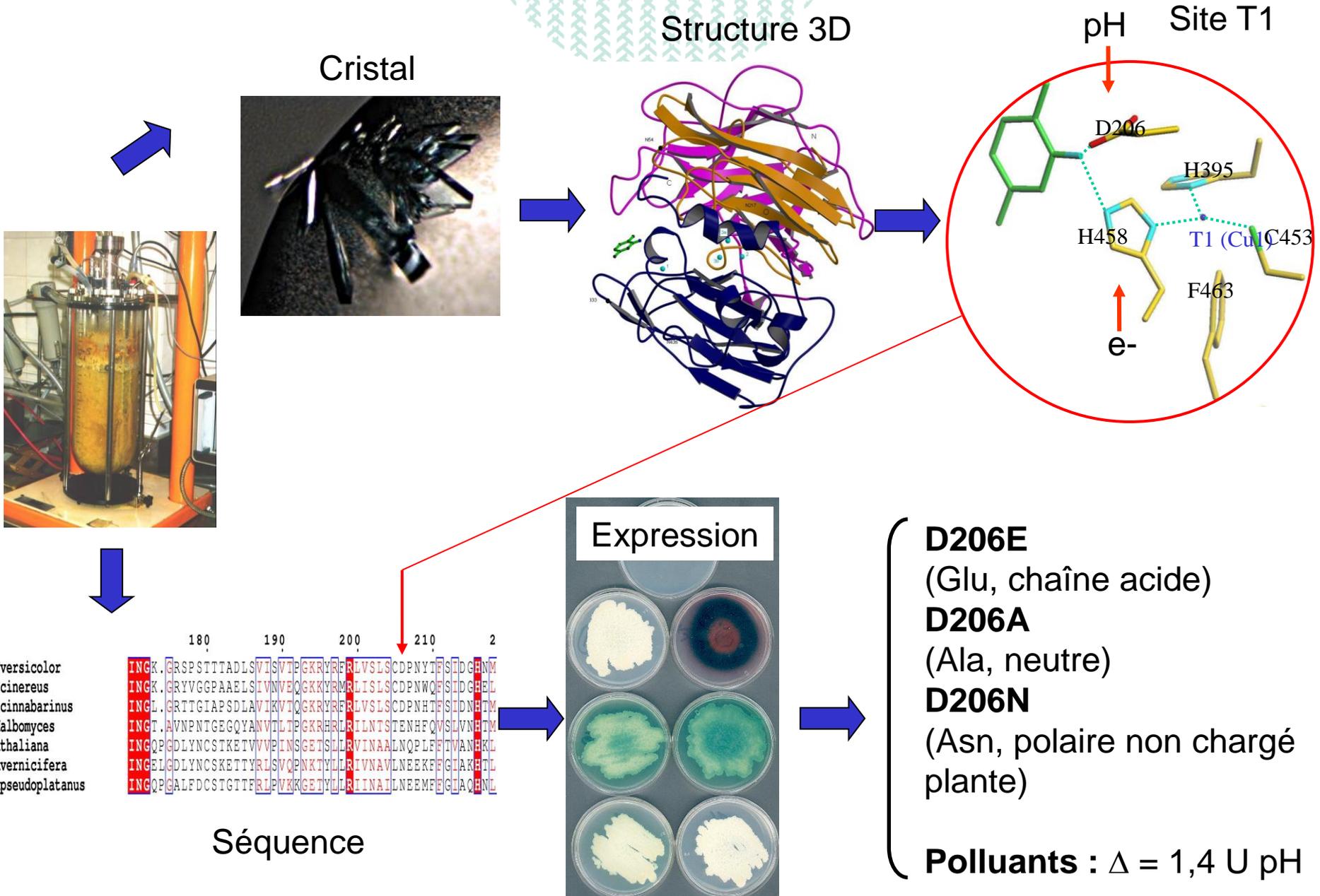
- **Méthodes biologiques**

- Microbiologie (réacteur), biochimie/enzymologie (FPLC), BM

- **Radio-isotopes**

- <sup>14</sup>C, <sup>3</sup>H, <sup>35</sup>S, <sup>32</sup>P, <sup>33</sup>P

# Optimisation des potentialités des enzymes : laccases

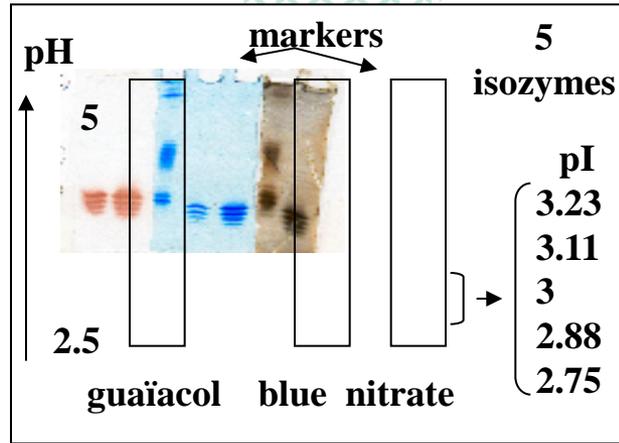


# Régulation de la production enzymatique : laccases

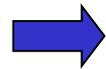
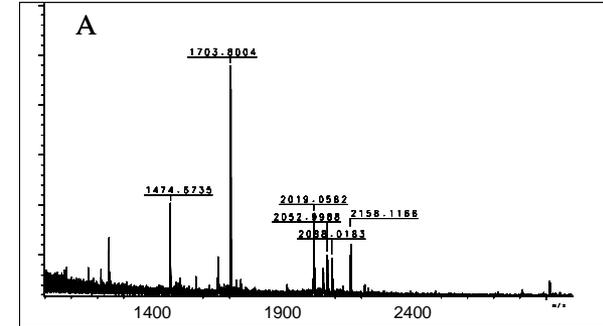
Polluants



IEF



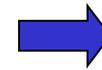
Maldi-TOF



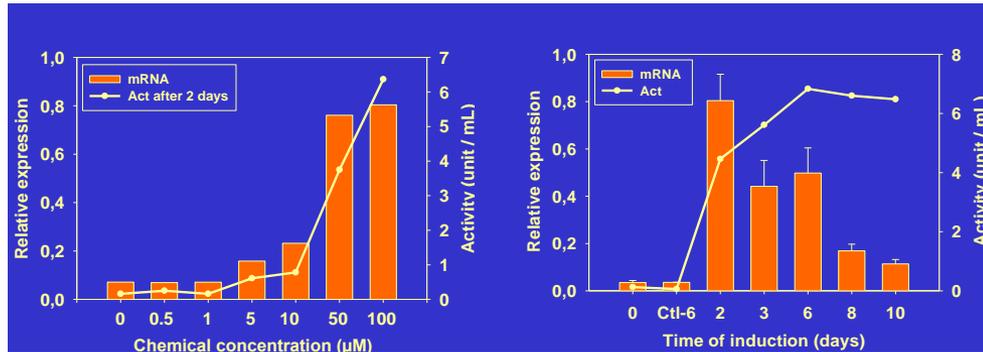
Transcriptome



Protéome



Activités



lac A  
lac B ?

AF414109

# Les programmes et projets actuels de Pessac

## thématiques

dynamique / biodisponibilité / impacts

## échelles d'étude

communautés / cultures pures / enzymes

champignons  
(bactéries)

oxydases  
hydrolases

## techniques et outils

chimie analytique / mesures physiques / biochimie / BM



ALIMENTATION  
AGRICULTURE  
ENVIRONNEMENT



# *Dynamique : réactivité des MOS vs métaux*

- **Quels constituants réactifs spécifiques gèrent la redistribution et la spéciation des métaux ?**

- **Parois de bactéries (souches cultivées extraites de sols pollués)**
- **Compartiment bactérien du sol (après extraction Nicodenz)**
- **Élaboration de milieux de culture avec spéciation contrôlée du métal**

➔ **Concentration en sites réactifs , constantes d'acidité, charges de surface**

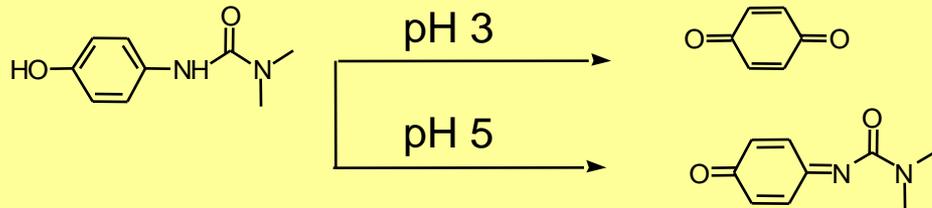
## ► **Potentiométrie :**

- **qualifier et quantifier les liaisons avec les métaux**
- **acquérir des données permettant de contraindre les modèles de spéciation**

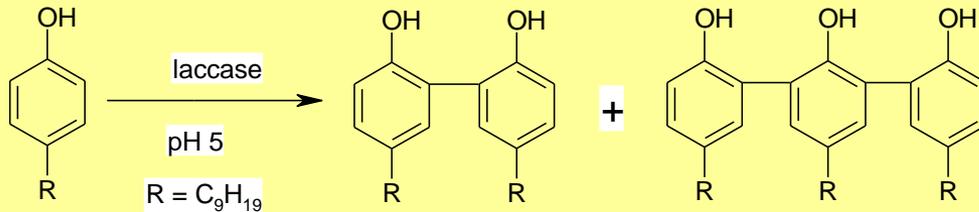


# Dynamique : biotransformation ► dépollution

## Oxydation du 4-hydroxyfénuron



## Couplage oxydatif du nonylphénol

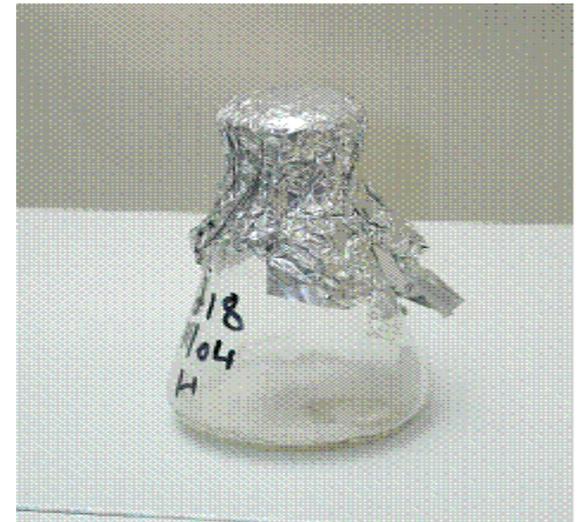


► cartes métaboliques, aspects cinétiques  
« mass-balance »

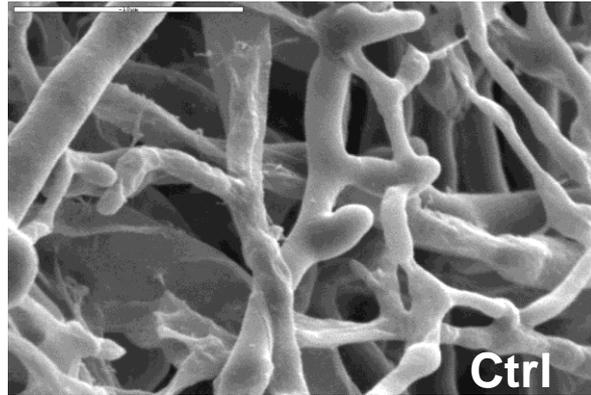


# *Biodisponibilité et impact*

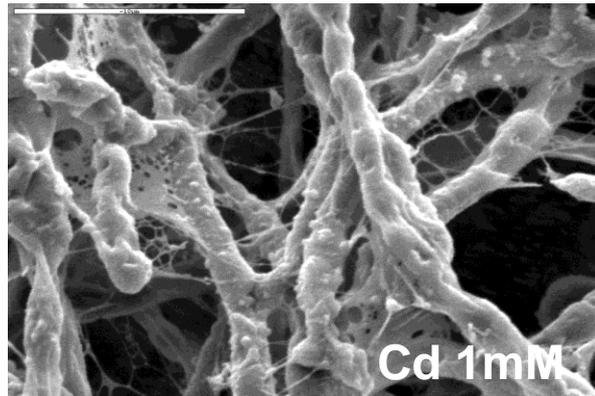
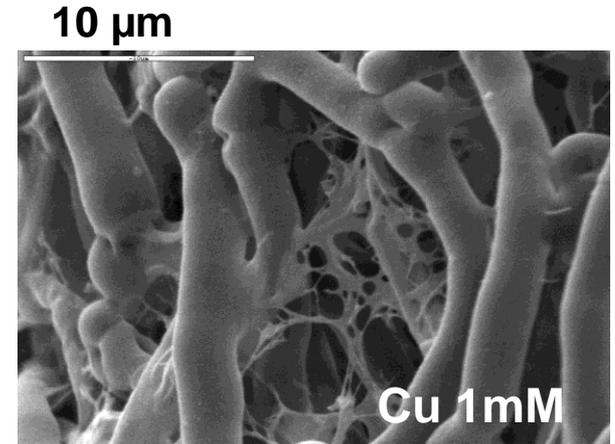
- **Internalisation, externalisation, spéciation des polluants en solution (présence ou non de ligands diminuant la biodisponibilité), en relation avec la production d'enzymes et les traits morphologiques**
  - ▶ **Couplage chimie (spéciation chimique), microbiologie (croissance, reproduction), dosages enzymatiques, microscopie**
  - ▶ **Seuil de réponse des organismes (sensibilité), sélectivité...**
  - ▶ **Métaux, composés organiques (EDCs)**



# Impacts : traits morphologiques

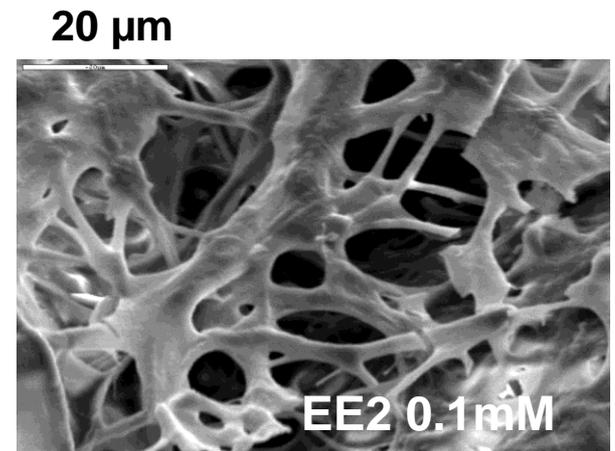
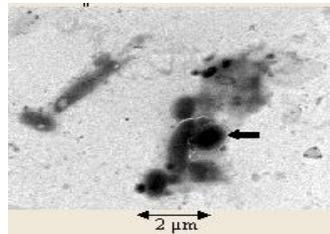


*T. versicolor*



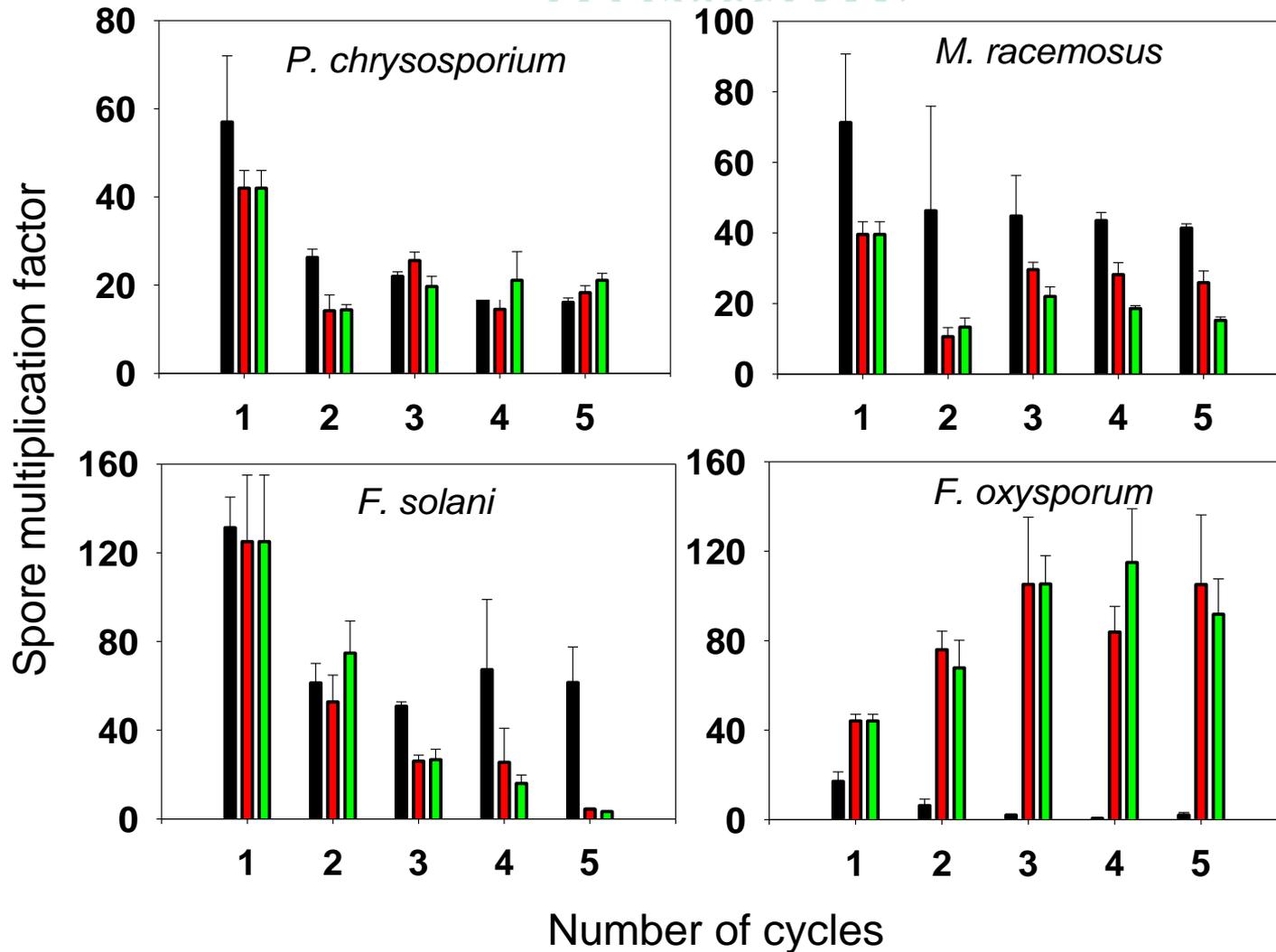
MEB-Cryo

μsondes EDS



► sensibilité, lames minces de sols ?

# Impacts : reproduction



Controls

NP 5 10<sup>-6</sup>M  
≈ A-limit

NP /2  
> 3.1 10<sup>-7</sup>M  
≈ P-limit

# *Impacts : profils enzymatiques = biomarqueurs ?*

- **Biochimie structurale et métabolique, régulation**
    - Organismes extrêmophiles
    - Bases physiologiques et environnementales de la sécrétion d'enzymes chez les champignons
    - Interactions sols (constituants) / protéines
  - **Méthodologie analytique dans les sols**
    - Extraction des pools enzymatiques
    - Purification
    - Protéomique
- ▶ Analyse mathématique des profils

# Impacts : quels indicateurs microbiens dans les sols ?

- **Quantitatifs** : ergostérol, PLFA, ADN fongique et bactérien
- **Fonctionnels** : hydrolases - oxydases

## Variation spatio-temporelle à la parcelle

- en fonction des pratiques
- en fonction des contaminations

## Pertinence, redondance, construction d'indices

- ▶ analyse chimique, Q-PCR, tests enzymatiques, modèles mathématiques et sur dires d'experts

# Besoins

- **Connaissances fondamentales**
  - MOS
  - spéciation au niveau moléculaire
  - interactions sols (constituants)/protéines
  
- **Outils et méthodes (mathématiques)**
  - traitement des profils (PLFA, protéines)
  - modélisation de la réactivité/transfert/biodisponibilité  
données *in situ*
  - traitement d'image (traits morphologiques)