

# Elaboration et validation d'un indice d'état biologique des sols

**Karine Laval<sup>1</sup>, Christian Mougin<sup>2</sup>, Patrice Lepelletier<sup>3</sup>, Sylvie Barray<sup>4</sup>, Daniel Tessier<sup>2</sup>**

*1 Laboratoire BioSol – Esitpa – 13 Rue du Nord – 76000 Rouen*

*2 Unité PESSAC - INRA Centre de Versailles-Grignon - 78026 Versailles Cedex*

*3 LAMSAD – Esitpa – 13 Rue du Nord – 76000 Rouen*

*4 Laboratoire LMDF– UFR des Sciences – 76821 Mont St Aignan cedex*

## **Introduction**

L'objectif de cette étude est d'estimer l'impact du cuivre sur les communautés microbiennes des sols au regard de la variabilité spatiotemporelle de ces communautés mais également de l'impact des pratiques culturales. Le compartiment microbien a été estimé par des variables descriptives relatives d'une part, à la structure des communautés et d'autre part, à l'activité de ces communautés. L'analyse est complétée par la détermination des paramètres physicochimiques des sols. Dans une approche multidisciplinaire, différentes techniques d'analyses ont été mises en œuvre dans l'objectif de palier les biais inhérents à chacune d'elles. La première année, les variables ont été déterminées sur des échantillons provenant de parcelles de prairies et de grandes cultures, parcelles de référence, non contaminées. La seconde année, ces mêmes variables sont mesurées sur des échantillons de sols issus de microcosmes non remaniés et contaminés par une solution de cuivre.

## **Matériel et Méthodes**

Deux sites, localisés dans le Nord Ouest de la France ont été considérés : St Georges sur Fontaine (18.0% argile, 67.2% limons et 14.8% sables) et Yvetot (18.2% argile, 62.1% limons et 19.7% sables). Pour chacun d'eux, 2 pratiques culturales : une prairie permanente et une culture intensive (rotation blé, maïs, pois) ont été étudiées.

Le sol a été prélevé à 3 dates différentes pendant l'année 2005. Pour chaque parcelles, 20 échantillons composites, géo référencés, ont été récoltés à chacune des dates de manière à prendre en compte la variabilité spatiale. Avant l'analyse, le sol a été tamisé à 2 mm.

Au cours de l'année 2006, l'impact du cuivre a été analysé en microcosmes de sol non remanié, prélevés en 5 points sur les parcelles du site d'Yvetot à l'aide de cylindre de PVC de 12,5 cm de diamètre et de profondeur. Les microcosmes ont été incubés au champ.

Trois traitements ont été considérés : un témoin, et deux concentrations de cuivre. Le cuivre a été apporté sous la forme de 25 mL d'une solution de  $\text{CuSO}_4$  pour obtenir un ajout de 2 et 200 ppm. En parallèle, les microcosmes témoins ont reçu 25 mL d'eau.

Les analyses ont été réalisées juste avant l'ajout du cuivre puis 7, 35 et 70 jours après cet ajout. A chaque date d'analyse et pour chaque traitement, 5 cylindres ont été prélevés, détruits et le sol tamisé à 2 mm avant la détermination des variables.

Les variables biologiques analysées sont l'ADN microbien, pour l'estimation de la biomasse totale, le dénombrement des bactéries cultivables sur milieu R2A, la quantification des ADNr 16S et la numération cellulaire par cytométrie en flux pour l'estimation de la biomasse bactérienne et enfin la quantification de l'ergostérol, des ADNr18S, et des PLFA C16:1 et C18:2 pour l'évaluation de la biomasse fongique. Cette analyse structurale est complétée par une analyse fonctionnelle reposant sur la détermination de certaines activités enzymatiques ainsi que sur l'élaboration des profils métaboliques potentiels des communautés bactériennes. Les paramètres physicochimiques sont le carbone organique total, la CEC, l'azote total, le phosphore, le cuivre total et biodisponible, l'humidité, la texture et la densité apparente.

## Résultats et Discussion

L'évaluation de la variabilité spatiotemporelle des paramètres mesurés en 2005 met en évidence, pour la majorité des variables, des coefficients de variation élevés en grande culture comme en prairie (cv 10% à 80%).

Les sols de prairie sont caractérisés par une biomasse microbienne totale supérieure à celle observée en sols de grande culture respectivement 26  $\mu\text{g/gTFS}$  et 13  $\mu\text{g/gTFS}$ , qui résulte d'une augmentation de la quantité de champignons mais également de celle des bactéries. Les activités enzymatiques mesurées sont également affectées par la pratique, et sont en moyenne trois fois inférieures en sols de cultures qu'en sols de prairie.

Les variables physicochimiques affectées par le mode de gestion des sols sont essentiellement le pH, le carbone organique total, l'azote total et la proportion d'argile.

Les expérimentations réalisées en microcosmes en 2006 montrent que quelle que soit la variable descriptive étudiée, dans nos conditions expérimentales, aucun impact du cuivre n'a été observé (quelle que soit la dose ou le temps après ajout). En effet, les résultats acquis à partir de ces échantillons de sols révèlent le poids du facteur pratique (44%) devant le facteur date de prélèvement (18%) (ANOVA à facteurs imbriqués).

L'analyse récapitulative tenant compte à la fois des résultats obtenus en 2005 et en 2006 permet de conclure que :

(1) l'effet pratique domine sur les variables suivantes : L'ADN microbien total, la totalité des variables descriptives du compartiment fongique, l'ADNr16S (seule variable descriptives du compartiment bactérien affectée) le pH, le carbone total, l'azote et le rapport C/N

(2) la date de prélèvement (incluant conditions climatiques, couverture végétale, et itinéraire technique) ne semble affecter que les variables : humidité, bactéries cultivables sur R2A, bactéries totales par CMF et activités métaboliques potentielles (variables pour lesquelles on note une forte variabilité résiduelle).

Les résultats acquis sur ces deux années 2005 et 2006 permettent de hiérarchiser les impacts des facteurs naturels et anthropiques sur les microorganismes telluriques ou plus spécifiquement sur la biomasse microbienne totale et sur les communautés fongiques.

Ainsi pour les variables descriptives de ces deux compartiments les facteurs peuvent être hiérarchisés comme suit : (1) pratique ; (2) site ; (3) date de prélèvement ; (4) cuivre.

L'évaluation des activités enzymatiques sur les deux années 2005 comme 2006 montre que les facteurs date et pratique n'expliquent pas à eux seuls les variations observées, les variations résiduelles restent très élevées (1/3; 1/3; 1/3). Ceci pourrait provenir de difficultés méthodologiques, inhérentes à la complexité des mesures mises en œuvre ou encore par une grande variabilité biologique de ces variables qui impliquerait un manque de robustesse pour de tels indicateurs.

## Conclusions

Ces résultats confirment la pertinence des paramètres choisis. En effet, la pratique culturale apparaît être un facteur dominant en comparaison à l'amplitude des variations spatiotemporelles.

D'autre part, dans nos conditions expérimentales, en microcosmes non perturbés, nous n'avons pas mis en évidence d'impact du cuivre sur les microorganismes du sol alors que la toxicité de ce polluant est souvent rapportée dans la littérature dans le cas de sols séchés, tamisés, homogénéisés. Aussi, notre hypothèse est que la préparation des sols stimule la réponse des microorganismes à une contamination chimique, dans la mesure où elle semble ne pouvoir s'exprimer qu'en présence d'une activité microbiologique intense liée à l'apport de carbone organique (déstructuration physique du sol, amendement, enfouissement de résidus de culture)