

Rôle des facteurs édaphiques et hydrométéorologiques dans la survie et le transfert de bactéries fécales bovines, à l'échelle bassin versant : cas de pâturages d'altitude

Jean Marcel Dorioz, Philippe Quetin, Claire Prigent-Combaret, Dominique Trevisan

▶ **To cite this version:**

Jean Marcel Dorioz, Philippe Quetin, Claire Prigent-Combaret, Dominique Trevisan. Rôle des facteurs édaphiques et hydrométéorologiques dans la survie et le transfert de bactéries fécales bovines, à l'échelle bassin versant : cas de pâturages d'altitude. Étude et Gestion des Sols, 2011, 18 (3), pp.217-236. hal-02648666

HAL Id: hal-02648666
https://hal.inrae.fr/hal-02648666

Submitted on 29 May 2020

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.

Rôle des facteurs édaphiques et hydrométéorologiques dans la survie et le transfert de bactéries fécales bovines, à l'échelle bassin versant : cas de pâturages d'altitude

J.-M. Dorioz(1)*, Ph. Quetin(1), C. Prigent-Combaret(2) et D. Trévisan(1)

1) INRA/Université de Savoie, UMR 0042 CARRTEL, 74203 Thonon les bains Cedex, France

2) Université Lyon1, UMR CNRS 5557, Ecologie microbienne Lyon, Campus de la Doua, bâtiment Gregor Mendel, 16 rue Dubois 69622 Villeurbanne Cedex, France

* Auteur correspondant : dorioz@thonon.inra.fr

RÉSUMÉ

L'objectif de ce projet mené dans le cadre du programme GESSOL 2 est de comprendre et modéliser la survie et la dynamique de transfert dans les déjections, les sols et les eaux, de contaminants fécaux bovins, en relation avec les pratiques pastorales et la variabilité des milieux. Les suivis sont centrés sur *Escherichia coli* et incluent des données sur les souches pathogènes STEC (Shiga-toxin producing *E. coli*). Des suivis complémentaires portant sur *Pseudomonas spp* fluorescents, populations typiques des sols, fournissent des éléments de comparaison importants. Les recherches sont réalisées dans un alpage des Alpes du nord, à l'échelle station-parcelle et bassin versant.

L'article présente une vue d'ensemble de la démarche d'étude, des méthodologies et des résultats obtenus, puis se focalise sur les acquis concernant le comportement de *E. coli* dans les sols et sur les apports de la modélisation des transferts à l'échelle bassin versant. Les résultats sont discutés dans une double perspective, celle d'une synthèse présentant le fonctionnement du bassin versant pâturé comme un système de transfert de contaminants fécaux et celle de réflexions opérationnelles relatives à la gestion pastorale.

Mots clés

Bactéries fécales, *Escherichia coli*, Bassin versant-Alpages.

SUMMARY

SURVIVAL AND TRANSFER OF FECAL BOVINE BACTERIA AT THE WATERSHED SCALE, IN A MOUNTAIN RANGELAND AREA

This research project entitled « Pastor » is devoted to the study of the survival and dissemination of fecal bacteria contaminants originated from cattle, in soil and surface water. It focuses on microbial contamination by Escherichia coli in relationship with dairy grazing of alpine rangelands. E. coli is considered as a global indicator of fecal contaminations.

Reçu : juin 2011 ; Accepté : septembre 2011

Studies have been carried both at the plot and at the watershed scale. They deal with:
1) the dynamics of E. coli populations, including pathogenic STEC (Shiga-toxin producing E. coli) strains, released in the mountain environment; the objective is to characterize survival and storage compartments of E. coli in soil following their release by cattle feces; the population dynamics of E. coli in soils is compared with dynamics of typical soil inhabitants (the fluorescent Pseudomonas spp.), in order to reveal specific adaptive strategies of E. coli;
2) the identification and characterization of the grazing areas providing specifically a high contribution to fecal contamination of surface water; this was carried out by quantifying and modeling E. coli transfers from soil to water, with the aim to link together E. coli fluxes monitored at the watershed outlet, grazing conditions and hydrologic properties of the watershed.
The output of the model is of interest to identify the critical source areas. Further assessment of the groundwater compartment is needed to improve our understanding of E. coli ecology especially with regards to the outlet peaks unrelated to stromflows.
The operational interest of « Pastor » concerns the prevention of fecal pollution of surface water and the relevance of E. coli as an indicator of fecal contamination. The knowledge of critical source areas is an important information for management of pastured watersheds.

Key-words
Fecal bacteria, Escherichia coli, watershed, rangeland.

RESUMEN
PAPEL DE LOS FACTORES EDÁFICOS Y HIDROMETEOROLÓGICOS EN LA SUPERVIVENCIA Y LA TRANSFERENCIA A ESCALA DE LA CUENCA VERTIENTE, DE BACTERIAS FECALES BOVINAS

El proyecto "Pastor" trata de la supervivencia y de la diseminación de los contaminantes microbianos del suelo hacia las aguas. Apunta la contaminación microbiana del agua por E. coli (indicador de la contaminación fecal) en los prados alpestres en relación con los pastos de lechera.

La demanda social en términos de calidad microbiana del agua está importante, incluyendo los Alpes norteños franceses, región de reserva de agua. Las contaminaciones se deben en parte a las prácticas de pastizales. Un inquietante desenlace está la ocurrencia de animales portadores sanos de E. coli potencialmente patogénicos para los humanos y cuya diseminación por los animales de granja está posible. La calidad del agua en las zonas de pastizales entra en debates más amplios sobre la gestión sostenible de los recursos de aguas subterráneas bajo pastos.

Las investigaciones desarrollas en el proyecto "Pastor" tratan de:

1) la dinámica de las populaciones de E. coli, incluyendo las tensiones debidas a las STEC patogénicas, una vez liberadas en el medio ambiente montañoso; el objetivo está caracterizar los compartimentos de supervivencia y de almacenamiento de E. coli en los suelos después de su depósito por las deyecciones del ganado, y comparar con la dinámica de las populaciones típicas del suelo (Pseudomonas spp. fluorecens) para la evaluación de las estrategias adaptivas de E. coli.

2) la identificación y la caracterización de las zonas de pastos que contribuyen a la contaminación fecal de las aguas de superficie en una cuenca vertiente alpestre; Se midió la cuantidad de E. coli que está transferida de las diferentes zonas de pastos hacia el agua, con la finalidad de ligar el stock de E. coli y el flujo a la salida de la cuenca vertiente, al funcionamiento del pasto y a las propiedades hidrológicas de la cuenca vertiente.

"Pastor" incluye también un análisis del funcionamiento de la cuenca vertiente en términos de transferencia de los contaminantes fecales y de modelización del flujo bacteriano. La información necesaria para la modelización incluye los regímenes de exportación a la salida de la cuenca vertiente, condición de transferencia en la cuenca vertiente, y el potencial de liberación de las diferentes unidades de pastos. El rendimiento del modelo estará importante para la gestión mejorada de los recursos en agua en los pastos alpestres.

La significación práctica de "Pastor" concierne la prevención de la contaminación fecal del agua y la pertinencia de E. coli como indicador de la contaminación fecal. Es necesario tener una evaluación más precisa del compartimento del agua subterránea para mejorar nuestro conocimiento de la ecología de E. coli especialmente para los picos de salida no ligados a los flujos. El conocimiento de las zonas de contaminación activa está importante para la gestión de los circuitos de pastos, de las zonas de abrevadero del ganado, de los pasos de arroyos, así como el cierre de las zonas de riesgo. Estas medidas de protección están más bien costosas a aplicar. Sin embargo, a pesar del hecho que una proporción muy pequeña de contaminantes microbianos llega al agua de superficie, pueden tener consecuencias muy significativas en términos de salud humana y animal.

Palabras clave
Bacterias fecales, Escherichia coli, cuenca vertiente, pastos.

Les contaminations microbiennes des eaux par des bactéries d'origine fécale représentent une problématique mondiale pour la santé humaine. Un lien est souvent établi entre élevages agricoles et dissémination de pathogènes dans les eaux (Oliver *et al.,* 2005). Dans les régions de montagne tempérée, du fait notamment de localisation préférentielle des troupeaux et des captages pour l'eau potable dans les têtes de bassins versants, la contamination microbienne fécale des eaux est souvent dépendante de pratiques pastorales. Une attention particulière est alors portée à la présence de pathogènes entériques et notamment de souches d'*Escherichia coli* (*E. coli*) potentiellement pathogènes pour l'homme (Vernozy-Rozand, 2005) tels que les *E. coli* producteurs de shigatoxines (désignées sous le terme de STEC, pour Shiga toxin-producing *E. coli*). La dissémination de cette souche en relation avec les parcours des troupeaux a rarement été envisagée, alors qu'elle a déjà fait l'objet d'investigations dans les cas d'apports ponctuels de fumure organique en conditions contrôlées (Jiang *et al*., 2002).

Face aux risques de dégradation des ressources en eau associés à certaines pratiques agricoles par ailleurs souvent valorisées en terme de contribution au paysage et à la biodiversité, des suivis de parcelles pilotes ont été mis en place dans les Alpes du Nord, dès les années 2000 (par le « GIS Alpes du Nord » ; http://www.gisalpesjura.fr/). Les recherches menées portent sur la caractérisation de la charge des effluents d'élevage et sur les risques liés aux épandages d'engrais de ferme et de boues de station d'épuration sur prairies (Vansteelant, 2004 ; Trèvisan *et al.,* 2002). Les résultats acquis sont à l'échelle parcelle ; ils fournissent des références de base importantes mais ne permettent pas de développer des connaissances intégratrices sur le devenir des micro-organismes fécaux dans l'environnement. Or, les développements à l'échelle du territoire ou du bassin versant sont indispensables pour élaborer les outils conceptuels et opérationnels nécessaires à une gestion des pâturages adaptée aux enjeux de la qualité des eaux. C'est dans cette perspective globale et pour contribuer à répondre à ces enjeux sociétaux, que nous avons développé le projet de recherche intitulé PASTOR (réponse à l'appel d'offre GESSOL 2).

L'ambition générale du projet est d'apporter des connaissances intégrées concernant le comportement dans les déjections, les sols et les eaux, de bactéries fécales introduites par l'élevage. Dans ce cadre, les objectifs spécifiques sont de comprendre la survie et la dynamique de transfert des sols aux eaux de *E. coli*, à l'échelle sol et bassin versant, pour établir des modèles reliant le fonctionnement du milieu biophysique et pastoral avec la qualité des eaux de surface et pour identifier, en conséquence, les pratiques agricoles à risques, les zones et époques critiques.

Le projet est sous-tendu par divers enjeux scientifiques. Il s'agit tout d'abord de construire une synthèse interdisciplinaire sur le transfert de bactéries fécales troupeau-sol-eau, à l'échelle bassin versant et en relation avec des pratiques de gestion appliquées à ce territoire. L'approche bassin versant est classique en matière de pollution diffuse (Gril et Dorioz, 2002) mais assez rarement appliquée à ces polluants colloïdaux que sont bactéries fécales. La difficulté principale est de prendre en compte, non seulement les mécanismes et facteurs de contrôle du transfert des bactéries mais aussi les effets de l'organisation territoriale sur ceux ci.

PASTOR permet aussi d'aborder des enjeux disciplinaires et notamment certaines questions de l'écologie microbienne relatives à l'introduction des micro-organismes dans l'environnement (Avery *et al.,* 2004). En bref, quel que soit le mode d'introduction –ici une dispersion liée à des animaux pâturant- les microbiologistes s'interrogent sur les mécanismes de survie, l'état physiologique et les lieux de « stockage » préférentiels des populations microbiennes introduites- ici des bactéries co-introduites avec leur milieu de développement, la matière fécale.

L'ensemble des enjeux, sociétaux et scientifiques, sont associés au choix des objets d'étude. Le modèle de terrain choisi est un « alpage » c'est-à-dire un espace d'altitude diversifié mais exclusivement pastoral dont nous cherchons à formaliser le fonctionnement en tant que système de transfert de bactéries fécales vers les eaux. Notre modèle biologique est l'espèce *E. coli*, un indicateur reconnu de contaminations fécales utilisé pour le contrôle de la qualité microbiologique de l'eau et des aliments (AFNOR NF T 90-414). Les données de toute nature sur *E. coli* sont extrêmement nombreuses. Un bref état des connaissances ciblé, concernant son comportement dans l'environnement, sera présenté dans le paragraphe suivant. Dans le projet, la dynamique de *E. coli* est comparée, au niveau du compartiment sol principalement, à celle d'un groupe de bactéries telluriques hétérotrophes de référence, les *Pseudomonas* fluorescents, ceci pour mieux évaluer la spécificité du comportement d'une population microbienne introduite.

Les investigations se structurent autour de quatre volets complémentaires incluant du monitoring, quelques expérimentations et de la modélisation :

- caractériser les lieux de stockage et la survie des *E. coli*, y compris les souches STEC, dispersés par les activités pastorales sur les divers types de sols du territoire étudié (Texier *et al.,* 2008 ; Frémaux, 2007 ; Frémaux *et al.,* 2009)
- évaluer dans quelle mesure l'introduction des bactéries fécales dans l'environnement peut conduire à la sélection de certaines populations mieux adaptées au milieu et/ou à la modification de leur état physiologique (ce volet ne sera pas du tout développé dans ce texte, voir Texier, 2008) ;
- comprendre la dynamique des populations de *E. coli* à l'échelle sol et bassin versant afin d'établir un modèle reliant le transfert (hydrologie, dispersion pastorale, stockages) avec la variabilité de la qualité microbiologique des eaux à l'exutoire (Trévisan *et al.,* 2010) ;

- reconnaître les portions d'espace du bassin versant qui contribuent majoritairement aux exportations bactériennes (les « zones sources critiques », voir Trévisan *et al.,* 2010).

Le texte qui suit fournit une vue d'ensemble assez large des démarches scientifiques utilisées pour ensuite se focaliser sur les principaux résultats nécessaires pour la synthèse à l'échelle bassin versant et pour aborder les discussions opérationnelles qui en découlent. En préalable il nous a semblé utile, dans un contexte d'interdisciplinarité, de fournir un état des connaissances sélectif, développant quelques concepts et références classiques des disciplines mobilisées dans ce projet.

ETAT DES CONNAISSANCES

Relations végétation-troupeau, faciès pastoraux

Les interactions sols-végétations-troupeaux s'avèrent toujours déterminantes vis-à-vis du fonctionnement agronomique et écologique des alpages (Dorioz, 1987 ; Bornard et Dubost, 1992). La disponibilité et l'appétence de l'herbe orientent le parcours des troupeaux et les choix des bergers. En retour, l'intensité et le mode de pâturage modifient profondément le fonctionnement du couvert végétal à moyen et court terme (effets de refus et de fertilisation dus aux déjections). Cette dynamique créée des gradients spatiaux de végétations constitués par des successions de « faciès pastoraux », unités élémentaires caractérisées par une végétation type et un sol type. Le faciès pastoral traduit un équilibre sur le moyen terme (quelques années), entre un mode de fréquentation par les animaux, un taux et un régime de déjections, et un état trophique du sol (S/T, C/N…).

Le bassin versant, système de transfert de pollutions diffuses

Les difficultés à extrapoler sur de grands espaces, les informations recueillies à l'échelle du système plante-sol, expliquent le succès de l'approche bassin versant en matière de recherche et de mesure de la pollution diffuse agricole (Leite, 1990). Le bassin versant est alors représenté comme un « système de transfert » (Gril et Dorioz, 2002) qui produit, consomme, transforme, stocke, en bref « métabolise » des polluants avant de les transférer, en différé, à l'exutoire (Cassel *et al.,* 2002). Les zones du bassin où coïncident de forts stocks mobilisables et des écoulements susceptibles de les mobiliser, constituent les « zones sources critiques ». Ce concept peut être en théorie appliqué au cas de la contamination fécale : la compréhension du transfert suppose alors d'identifier, comment s'élaborent des stocks en fonction du parcours des troupeaux, quels sont les lieux privilégiés de stockage, et considérer les connections permises par l'état hydrique du système, le tout étant soumis à de forts déterminismes pédologiques et topographiques.

Survie et transfert des bactéries fécales, en particulier *E. coli*, dans l'environnement.

E. coli est une population de la microflore digestive de l'homme et de nombreuses espèces animales homéothermes (il existe donc un bruit de fond lié à la faune sauvage). Les effectifs dans les matières fécales sont de l'ordre de 10^7 *E. coli*/g de matière sèche de fèces pour les bovins, soit 10^9/10^{10} par jour par bovin adulte. Les structures génétiques des populations d'*E. coli* dans les déjections (Byappanahalli *et al.,* 2006) sont complexes, résultent de mécanismes adaptatifs et varient en fonction de l'hôte, de son âge, de son régime alimentaire (Jonhson *et al.,* 2004 ; Yang *et al.,* 2004).

L'émission dans l'environnement représente pour les bactéries entériques un changement radical et brutal de conditions de vie qui peut aboutir à une sélection de certaines sous-populations mieux adaptées à la croissance dans des milieux plus oligotrophes que le tube digestif. Mais cette adaptation a des limites et les défauts de nutrition, les stress oxydatifs ou hydriques se traduisent, soit par une mortalité accrue, soit par l'entrée en état stationnaire qui produit des bactéries viables mais non cultivables (dont le statut est encore mal défini). Il s'ensuit à terme, dans la plupart des cas, une décroissance de la population due à des conditions hostiles (dessiccation, rayonnement, température…). Cette décroissance de la population est qualifiée de « survie ». Elle varie selon le compartiment de l'environnement considéré (végétations, sols, eaux) et suit en général une cinétique du premier ordre.

L'entrée dans l'environnement s'effectue toujours via une « co-introduction » des bactéries et d'un milieu nutritif auquel les populations fécales sont adaptées (matières fécales). La co-introduction est connue comme est un facteur allongeant la survie des bactéries introduites. La survie des bactéries fécales et notamment de *E. coli* est d'ailleurs maximum, sur le sol, dans les amas organiques de grosses tailles, qu'ils s'agissent de bouses ou de masses de fumier ou de lisier (Vansteelant, 2004). Elle est minimale sur la végétation (2 à 3 semaines selon Trévisan *et al.,* 2002), limitée à ce niveau par la dessiccation, les UV, la facilité du lessivage par la pluie, voire parfois des antibioses (Aström *et al.,* 2006). Au niveau de la matrice du sol, la survie est maximum dans les horizons organiques du sol en raison d'une abondance relative en nutriments, conditions qui permettent des survies de quelques mois (jusqu'à 2-3 mois) en tout cas largement supérieures à celles observées dans les horizons profonds (Michel *et al.,* 2000 ; Vansteelant, 2004). La survie dans le sol s'allonge également pour les conditions humides (l'anaérobiose tend à augmenter la survie) et froides (paradoxal pour des bactéries dont l'optimum est à 37°). A l'inverse, les valeurs basses du pH (<5) sont très limitantes. Tous ces fac-

teurs (humidité, nutriments, UV, pH…) expliquent les différentiations de potentiel de survie entre saisons et entre stations, en fonction des types de sols et de topo-climat. Ce cadre général est valable pour toutes les bactéries fécales avec bien entendu une variabilité selon les espèces (Jiang *et al.,* 2002).

Les facteurs abiotiques évoqués précédemment agissent en combinaison avec des facteurs biotiques, notamment la prédation par les protozoaires souvent considérée comme le facteur clé de la régulation des bactéries fécales (Oliver *et al.,* 2005). Les bactériophages sont aussi parfois cités (Ascheford *et al.,* 2003). La présence de racines a un impact majeur sur ces interactions et la survie des entérobactéries (Berg *et al.,* 2005) : du fait de leur effet trophique certaines rhizosphères pourraient constituer un réservoir de pathogènes, d'autres au contraire peuvent produire des conditions défavorables à la survie (antibiotiques, acidification…).

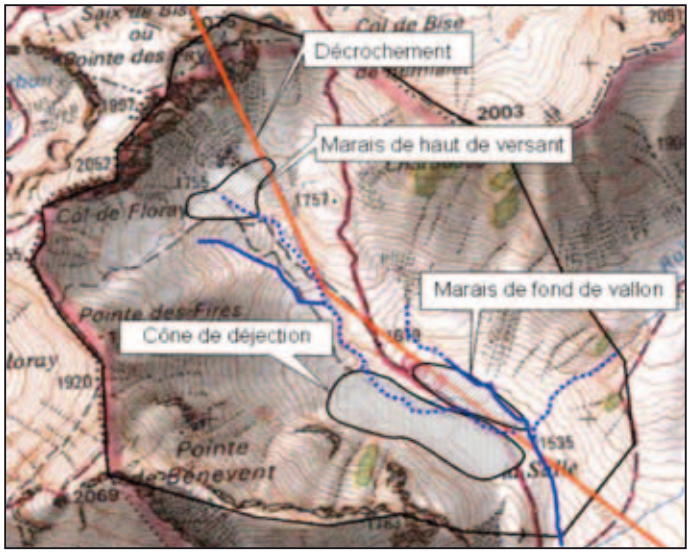
Transfert vers les eaux

L'infiltration d'eau contaminée à travers le profil d'un sol, assure souvent une réduction de sa charge en bactéries fécales (Smith *et al.,* 1985). Cette atténuation est la conséquence de phénomènes physiques assurant une rétention (la filtration et l'adsorption). Elle dépend de l'épaisseur suivant une loi du premier ordre. Texture et porosité sont les paramètres clés qui régulent les distances de transfert : quelques cm en sols argileux, quelques dm en sols sableux, suffisent pour réduire la charge par 1 000 à 100 000 en bactéries fécales, selon Crane et More (1984). Il peut enfin exister des voies préférentielles d'écoulements liant surface et profondeur (fissures, macroporosité résultant de drainages artificiels ou autres) qui permettent des transferts plus rapides et plus profonds (Coté, 1994).

Les ruissellements constituent une autre voie de transfert (Jamesion *et al.,* 2004) associée aux pics de contamination lors des crues. Ils véhiculent des charges importantes (de 10^4 à 10^7 *cfu E. coli*/100 ml d'eau à l'exutoire de parcelles cultivées) qui sont susceptibles de s'atténuer en aval, par rétention dans les bandes filtrantes (Cassell *et al.,* 2002). A noter par comparaison, que l'eau de boisson distribuée ne doit contenir aucun *E. coli*/100 ml et que la potabilisation d'une ressource est d'autant plus difficile que les charges sont élevées.

Figure 1 - Le bassin versant étudié, topographie IGN et réseau hydrographique (écoulements temporaires en pointillés bleus et permanents en trait continu bleu) ; échelle 1/20 000.

Figure 1 - *The studied watershed, topography, hydrographic network; scale 1/20 000.*



MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le site d'étude

Le site de l'étude *(figure 1)* est un bassin versant à végétation quasi entièrement herbacée, de 170 ha s'étageant de 1 550- 2 100 m. C'est l'un des deux vallons constituant l'unité pastorale des Cornettes (Haute-Savoie, pré-alpes calcaires, étage subalpin des alpes externes). Il s'agit d'un alpage laitier portant lors de la période d'étude environ 100 unités de gros bétail, en 2 troupeaux bovins. Le pâturage est « semi-libre » : les bergers déterminent le circuit général de pâture, guident quotidiennement les troupeaux dans les divers grands quartiers que les animaux pâturent ensuite librement. Une partie importante environ du vallon (100 ha sur 170), bien que constituée de prairies et pelouses, est non pâturée depuis des décennies (secteurs trop pentus ou éloignés).

Le choix de ce site d'étude s'explique (1) par la qualité des données antérieures sur la diversité des sols et relations sols-végétations-troupeaux (Legros *et al.,* 1987 ; Dorioz et Party, 1987) ; (2) par sa bonne accessibilité estivale pour l'implantation des dispositifs de mesure et le bon accueil des exploitants agricoles et de la commune (3) par l'absence d'épandage, d'habitations et de sources de contaminations domestiques. Le cadrage agro-écologique a été réactualisé récemment et complétés par une étude hydrogéologique (Drevet, 2004). En considérant les gradients régionaux, on peut estimer la pluviométrie annuelle moyenne du site à environ 2 000 mm au niveau de l'exutoire. En hiver, le manteau neigeux atteint dans les vallons 1 à 2 m d'épaisseur. L'exutoire est situé sur un ruisseau torrentiel d'ordre 1. L'écoulement est permanent. Les eaux sont bicarbonatés calciques. La fonte des neiges génère de forts débits (jusqu'à 200 l/s contre 5/s lors de l'étiage estival). Les crues estivales peuvent atteindre 1 m^3/s.

A l'échelle de l'alpage, sous l'effet du parcours des troupeaux et d'un fonctionnement hydrique très favorable, on assiste globalement à une concentration de l'eau, des produits d érosion, des déjections et donc des nutriments, dans la partie basale du vallon, qui, de ce fait, présente les végétations prairiales les plus eutrophes. Cette structure des flux détermine la répartition des faciès pastoraux. Les 4 types les plus représentatifs (90 % du vallon) ont fait l'objet de suivis stationnels détaillés. Ils sont brièvement présentés ci-dessous.

- **Pelouses maigres acidophiles**. Il s'agit de stations sur sols profonds (>1 m) et acidifiés (pH < 5), dominés, du fait de l'absence de restitution fertilisante, par des graminées peu ou pas appétentes, en particulier *Nardus stricta* (d'où la dénomination de « nardaie »). Les caractéristiques principales sont : une acidification prononcée des sols, une faible valeur pastorale, d'où une fréquentation épisodique par les animaux, malgré une topographie facile (les sols sont des alocrisols)
- **Pelouses moyennes à *Poa alpina*** (désignées par « gazon » à Pâturin). La végétation est dominée par des graminées et des plantes à forte appétence. La production en biomasse est relativement élevée ; la fréquentation est précoce et intense d'où un aspect de « gazon » et une abondance de déjections. Ces pelouses tapissent le fond de vallon, notamment la partie basale du cône de déjection. Les sols sont calciques (de type colluviosols et fluviosols calciques).
- **Pelouses grasses mésophiles.** Ce type de végétation, repéré par l'abondance de *Trisetum flavescens*, est dominé par les graminées fourragères ; la biomasse produite est forte bien que les restitutions par déjection soient faibles. Ces pelouses sont désignées, du fait de la physionomie du couvert végétal, comme les « hautes herbes » à Trisète. Elles sont localisées au niveau des pentes d'éboulis stabilisés, associées à des brunisols saturés et des calcisols dont la l'état calcique est maintenu grâce à des apports gravitaires de matériaux et érodats calcaires.
- **Pelouses nitrophiles à *Rumex alpina.*** Elles occupent des zones de reposoir. La concentration des déjections confère un caractère nitrophile prononcé à la végétation. Les sols sont de type gley et sols pélosoliques.
- **Zones humides.** Il s'agit de bas-marais carbonatés fréquentés sporadiquement par les bovins sauf à proximité des accès à l'eau. Les sols sont hydromorphes, calciques et humifères, associés à des exfiltrations ou des concentrations topographiques d'eaux (ce sont des histosols). La végétation est de très faible valeur pastorale.

Démarche

Les variables enregistrées se rapportent aux entrées, stockages et transferts d'eau et de germes fécaux. Le dispositif utilisé pour capter ces variables est organisé à 2 niveaux :

-à l'échelle de la station, des mesures sont réalisées pour : (i) étudier la variabilité des effectifs bactériens dans les différents compartiments du système, bouse, horizon de surface (0-5 cm), horizon de sub-surface (25- 30 cm) ; (ii) analyser la structure génétique des populations ; (iii) étudier et modéliser l'hydrodynamique des sols ; (iv) étudier par le biais de pluies simulées l'émission de bactéries depuis divers états de bouses ; (v) évaluer et modéliser le régime saisonnier d'apport de bouse par le troupeau.

-au niveau du bassin versant, les travaux portent sur des enregistrements relatifs au bilan hydrologique et à la qualité chimique et microbiologique des eaux, ainsi qu'au paramétrage d'un modèle de transfert des bactéries fécales.

Recueil et traitement des données

Bien que cette publication ne présente qu'une partie seulement de résultats obtenus dans Pastor, il nous a semblé utile de fournir une vue d'ensemble très simplifiée mais quasi exhaustive des méthodologies utilisées, en espérant ainsi mieux éclairer certains commentaires.

Le *tableau 1* présente donc l'ensemble des paramètres enregistrés et des informations recueillies avec un rappel des objectifs spécifiques et les références des méthodologies utilisées. Pour plus de détails, on se référera au rapport du projet Pastor (Dorioz *et al.,* 2008) et / ou aux thèses et articles cités ci dessous. Les méthodes utilisées relèvent de plusieurs champs disciplinaires :

- les effectifs de *E. coli* et *Pseudomonas spp* sont dénombrés en microplaques de titration par détection d'activités enzymatiques microbiennes (*E. coli* non pathogènes) ou de gènes (*E. coli* O157H7, Frémaux, 2007) ; ces méthodes rendent compte de l'existence d'organismes « actifs » mais non forcément cultivables ; *Pseudomonas spp* est détecté par un milieu électif enrichi en antibiotiques (Texier, 2008) ;
- la structure des populations d'*E. coli* dans les différents compartiments du bassin versant est étudiée par DGGE (électrophorèse en gradient de gel dénaturant), ciblant le gène *uidA* étudié sur les *E. coli* cultivables et non cultivables (Texier, 2008) ;
- modélisation des transferts par ruissellement (Trévisan *et al.,* 2010). Les efforts ont porté sur le transfert lors des périodes de ruissellement. L'espace est discrétisé sous forme de cartes « raster » pixellisées *(figure 2).* L'état de chaque bouse est évalué individuellement, ce qui permet de rendre compte de la complexité des phénomènes en termes de localisation et de dessiccation-fragmentation des bouses. Le modèle calcule chaque jour *j* la quantité totale *NTj* de bactéries transmises à l'exutoire selon l'équation (1) :

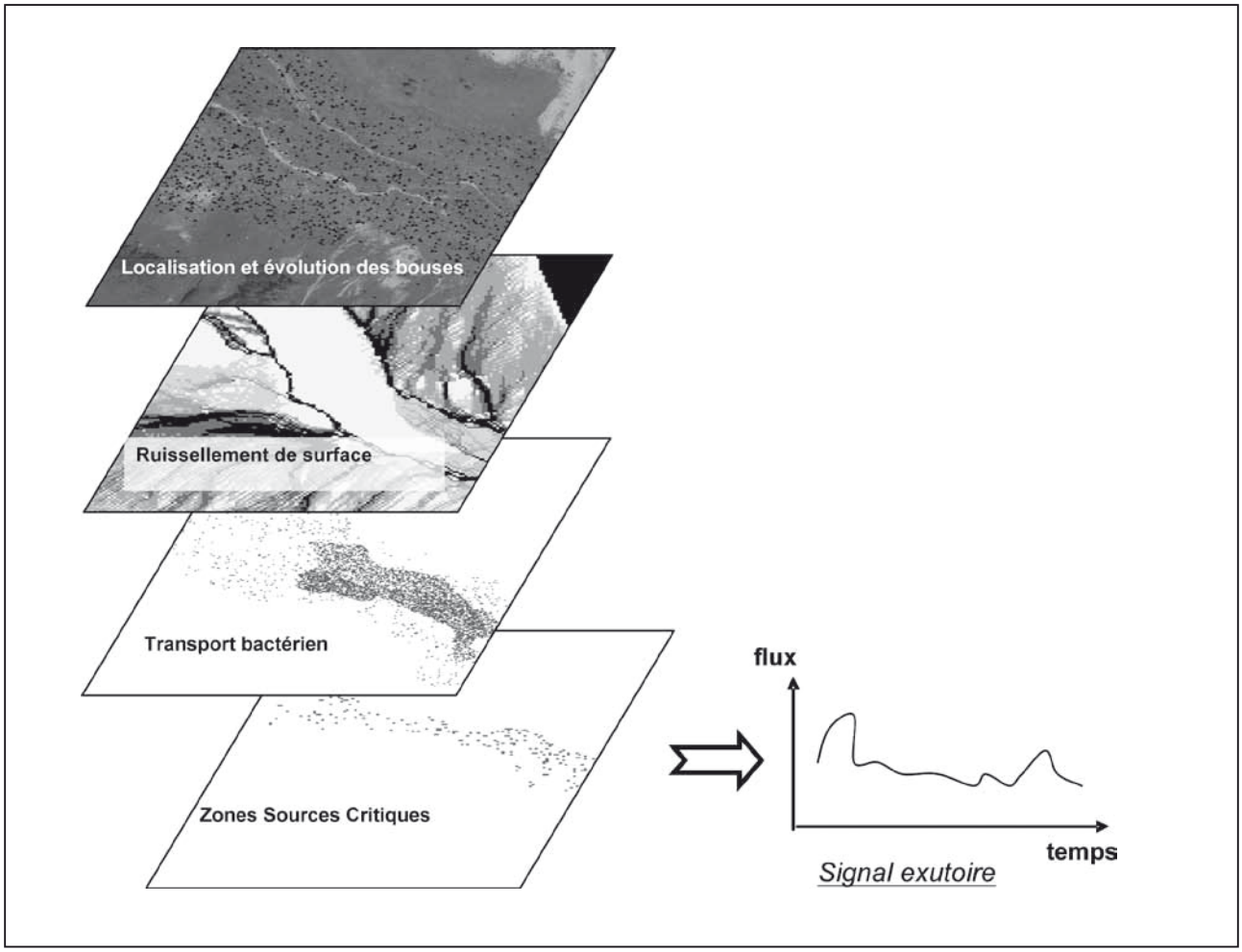
$$NTj = \sum_{1}^{k} \sum_{1}^{ik} Sj_{ik} \overline{E_k} Gj_i$$

où i est le nombre de pixels qui ruissellent et sur lesquels une bouse est déposée ; *k* le nombre de classes de bouses homogènes en terme d'âge de dépôt et de stock de bactéries mobili-

Tableau 1 - Vue d'ensemble du dispositif d'étude et d'échantillonnage.
Table 1 - *General overview of methodologies and sampling strategies used*

Objets		**Objectifs**	**Méthodes et dispositifs**	**Echelle de mesure** *références bibliographique*
Entrées	Eau	Régimes pluviométriques et évaporatoires Qualité de l'eau de surface et de sources, entrant dans le bassin	Station météorologique Analyses physico-chimiques et dénombrement *E. coli*	**Bassin versant**
	Déjections	Suivi de l'intensité et de la distribution des restitutions au pâturage	Dénombrement des effectifs de bouses dans divers stations représentatives des faciès pastoraux types	**Station**
Stocks	*Escherichia coli* *Pseudomonas sp* fluorescents	Cinétiques de survie *E. coli* dont STECS, et *Pseudomonas spp* Evolution de la structure des populations d'*E. coli*	Dénombrement dans différentes stations pastorales, à divers niveaux (bouse, sols, sous-sols) et divers dates, durant la saison de pâturage Extraction ADN et typologie des populations d'*E. coli*	**Station** *Vansteelant, 2004* *Texier, 2008* *Frémaux , 2007*
	Eau	Connaissance de l'état hydrique des sols et des connexions hydrologiques	Suivi d'humidité TDR en continu dans diverses unités géomorphologiques Cartographie du réseau hydrologique	**Station et bassin versant**
	Interaction stocks – écoulement	Mesures de la mobilité du stock de bactéries	Echantillonnage de ruissellements artificiels sur des déjections	**Station** *Vansteelant, 2004*
Sorties exutoire	Qualité des eaux : *E. coli* *et* *physico-chimie*	Détermination de la qualité bactériologique et chimique de l'eau Concentrations et flux de bactéries Evolution des populations bactériennes	- dénombrement *E. coli* - physico-chimie *selon normes AFNOR* sur : - échantillons ponctuels aux exutoires de sous-bassins - des échantillons intégrés à l'exutoire général, hebdomadaire pour la chimie, journalier pour la bactériologie - échantillons/2h, à l'exutoire général, lors de crues types. Typologie des *E. coli* à l'exutoire	**Bassin versant** *Texier et al., 2008* *Dorioz et al., 2008*
	Flux d'eau	Connaissances des régimes hydrologiques	A l'exutoire général, mesure des débits en continu durant la période printemps-automne	**Bassin versant**

Figure 2 - Modélisation du transfert bactérien : bases conceptuelles.
Figure 2 - *Organization of the studied system and model development at the watershed scale.*



sables, $\underline{S}$ la quantité de bouse, $\overline{E}$ la teneur moyenne en bactérie mobilisables des bouses et *G* une fonction de transfert bactérien rendant compte des phénomènes de mobilisation des bactéries et de leur rétention lors de leur trajet vers le réseau hydrographique.

La mise en œuvre du modèle demande de définir des fonctions relatives, à la localisation et à l'évolution des bouses, à l'émergence du ruissellement et au transport bactérien *(figure 2).* Le ruissellement est déduit d'une modélisation du fonctionnement hydrique de la couverture pédologique sous SMDR, 2003 (Soil Moisture Distribution and Routing model). Le transport bactérien est évalué à partir d'équations différentielles rendant compte des phénomènes d'émission de bactéries à partir les bouses et de leur rétention ultérieure le long des pentes depuis les pixels émetteurs jusqu'à l'exutoire du bassin.

Les informations récoltées pour ce projet sont donc à la fois qualitatives, semi-quantitatives et quantitatives. Les données quantitatives brutes sont exprimées dans des unités aussi différentes que : des débits (l/s), des nombres/ha (bouses), des concentrations mg/l (chimie de l'eau) et des nombres de bactéries déterminés en cfu (Colony Forming Unit) par volume d'eau ou poids de sols ou d'eau (cfu/g ou cfu/l). Les limites de détection pour les bactéries sont de 10^2 cfu/g de sols ou de déjection pour *E. coli* et *Pseudomonas spp* et de 1 cfu *E. oli*/100 ml d'eau.

Au stade des comparaisons entre sites et époques et pour l'interprétation et la modélisation des relations entrées-sorties, ces données sont transformées en stocks (quantité/ha) et en flux (quantité/heure). A noter qu'il est peu fréquent de raisonner en flux pour des bactéries (Cassel *et al.,* 2002).

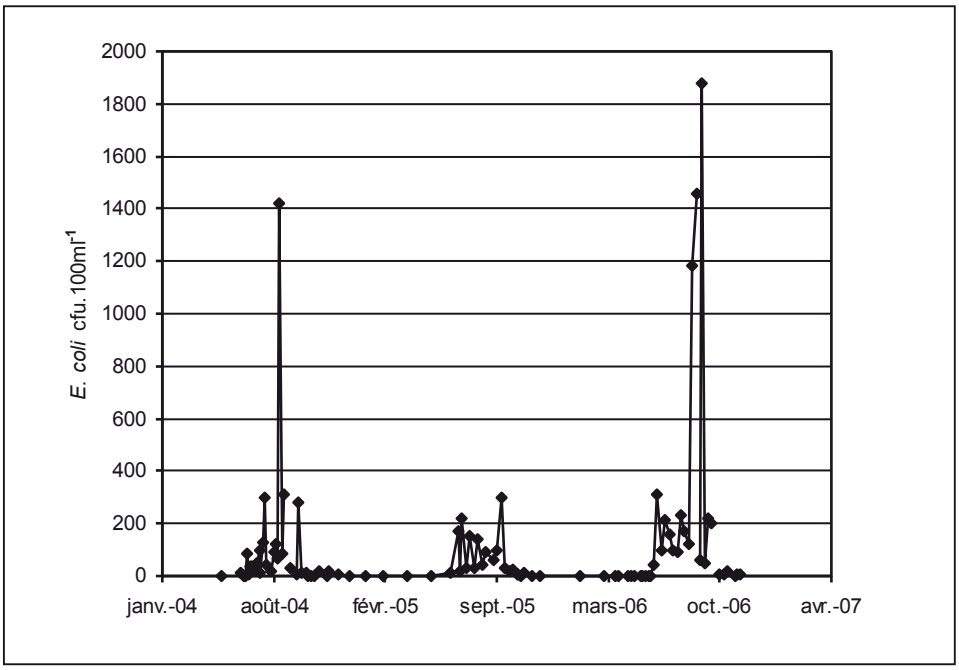


Figure 3 - Concentration en *E. coli* à l'exutoire du bassin versant (prélèvements ponctuels, hebdomadaires en été).

Figure 3 - *Numbers of E. coli at the outlet of the studied watershed (instantaneous grab samples; on a weekly basis in summer).*

RÉSULTATS COMMENTÉS

Ordres de grandeurs et variabilités de la contamination fécale des eaux

Toutes les eaux du bassin étudié (ruisseaux, sources, ruissellements, pluies, neiges) sont, quelque soit l'époque de l'année et l'hydrologie, très pauvres en nutriments. Les teneurs et flux à l'exutoire se situent dans la gamme du bruit de fond naturel, y compris pendant la période pastorale (Dorioz *et al.,* 2008). Les activités pastorales, bien qu'anciennes, n'affectent donc pas significativement la physico-chimie des eaux. La situation est toute autre au plan microbiologique : la présence de troupeaux sur le bassin versant accroit la charge fécale des eaux de surface, comme le montrent les prélèvements ponctuels réalisés pendant les 3 années de suivi *(figure 3).* Au cours de la saison pastorale, les teneurs en *E. coli* à l'exutoire du bassin varient avec des maxima en crue (jusqu'à atteindre 5.10^3 cfu/100 ml). En basses eaux, elles fluctuent autour de 20 cfu/100 ml. Par contraste et hors du territoire exploité par les bovins, le bruit de fond, évalué par des prélèvements simultanés dans des sous-bassins versants amonts, reste toujours très bas (<10 cfu/100 ml) et ce malgré la faune sauvage (micromammifères…).

Qualité microbiologique en basses eaux

La réponse de la qualité microbiologique des eaux, à l'arrivée et au départ des animaux dans le bassin versant est rapide : il suffit de quelques jours pour passer, à l'exutoire, à bas débit constant, sur une vingtaine de prélèvements ponctuels quotidiens consécutifs, de 0-10 à 10-100 cfu/100 ml ou réciproquement *(tableau 2).*

Ces valeurs d'étiage représentent les niveaux de base de la qualité microbiologique dans cet environnement. Au cours de la saison pastorale *(figure 4),* à l'exception de quelques rares montées sporadiques des teneurs en *E. coli* (sans lien avec le débit), ce niveau de base ne s'accroit pas bien que les surfaces ayant reçues des déjections augmentent. Les sources de contamination seraient donc limitées mais renouvelées en permanence et rapidement épuisables en fin de saison. Une contribution des apports directs de déjections bovines aux eaux de surface est probable. L'observation du terrain montre qu'elle se réalise surtout dans les lieux où fréquemment les troupeaux traversent les ruisseaux (sous la conduite des bergers) ou s'abreuvent. D'après un calcul élémentaire quelques bouses (environ 5) suffiraient à entretenir un flux quotidien au niveau observé.

En hiver *(tableau 2, figure 3),* la charge en *E. coli* à l'exutoire est toujours très faible mais ne disparaît pas totalement. Le flux s'accroît notablement lors des épisodes de fonte de neige, périodes où les surfaces saturées et ruisselantes ont une extension maximale ce qui assure une interaction maximale entre écoulements et stocks résiduels (sols ou résidus de déjections).

Pics de charge fécale en crues

Chaque crue survenant lors de la saison pastorale et enregistrée à l'exutoire à partir de suivis en continu et de prélève-

Tableau 2 - Variabilité saisonnière de la teneur et des flux en *E. coli* des eaux à l'exutoire du bassin, hors période de crue (prélèvements ponctuels 2004-2005).

Table 2 - *Seasonal variability of the numbers and fluxes of E. coli in waters at the outlet of the studied watershed, during low flow periods (mean values obtained from grab samples, from 2004 to 2005).*

Période (Q en l/s)				
Paramètres mesurés	**Couverture neigeuse** *décembre à mai* Q= 5- 80	**Fonte des neiges** *mai-juin* Q= 100-300	**Saison pastorale** *juin-septembre* Q= 10 -100	**Automne** *octobre-novembre* Q= 50-100
Nombre d'échantillons	10	5	39	13
Min-max (cfu/100 ml)	0-2	0-12	10- 200	0-20
Flux moyen (10^2 cfu/heure)	15 000	360 000	3 000 000	300 000

Figure 4 - Evolution du débit et des effectifs de *E. coli* à l'exutoire du bassin versant de juin à octobre 2005 (prélèvements intégrés et débit moyens, sur 8 h.).

Figure 4 - *Numbers of E. coli (CFU) and water discharge (Q) at the outlet of the studied watershed from June to October 2005 (8 h mean discharge; 8 h composite water samples).*

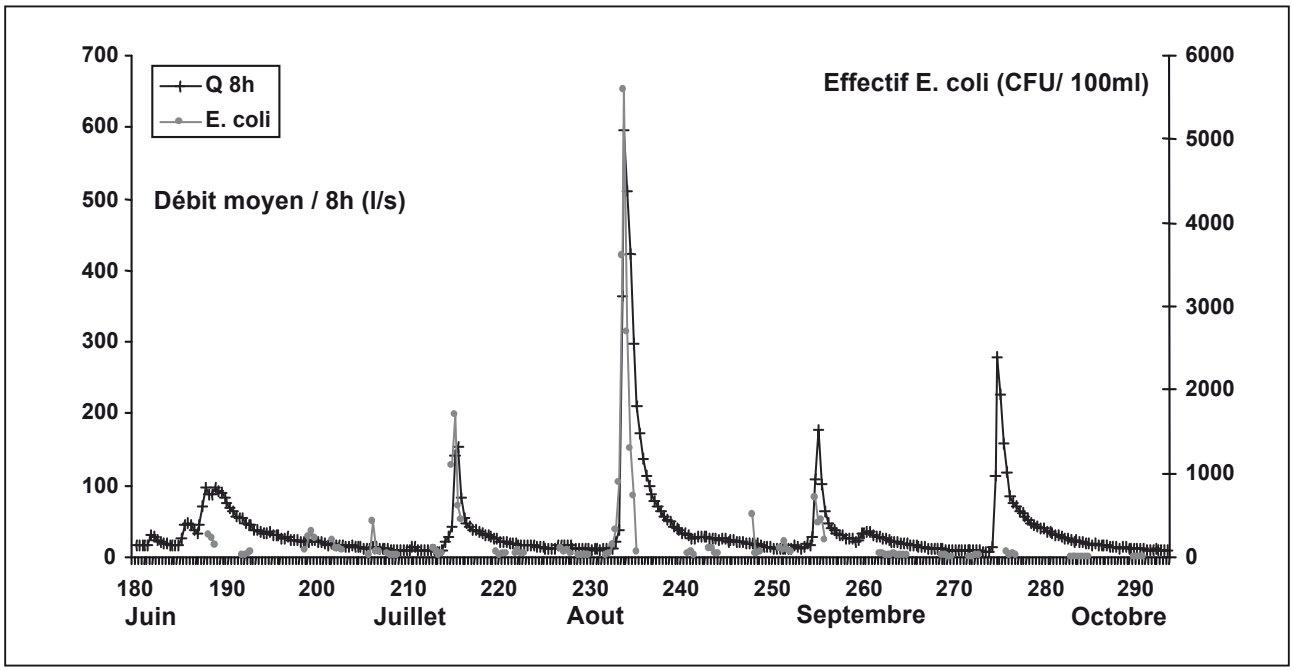


Tableau 3 - Valeurs des paramètres des modèles d'évolution du stock de déjection à l'échelle station, pour les différentes situations pastorales de l'alpage.

Table 3 - *Parameters of the regression models describing the seasonal evolution of cowpats numbers at the plot scale, for the 4 main vegetation types of the studied rangeland area.*

Situations pastorales	Modèle d'ajustement	Entrée moyenne de bouses (nombre. ha^{-1}. j^{-1})	r^2
Nardaie	(7)	5,9	0,82
Haute herbes à Trisète	(7)	5,9	0,43
Gazon à Pâturin	(8)	10,1	0,65
Bas marais	(7)	16,5	0,69
Rumex	(8)	49,7	0,70
Chemins du troupeau	(7)	0,22	0,85

ments automatiques, s'accompagne d'un net pic de concentration en *E. coli* (jusqu'à X100 en teneurs et X3000 en flux, exemple *figure 4*). Il apparaît au total une assez bonne corrélation globale teneurs entre teneurs en *E. coli* et débits *(figure 5).* Dans le détail, pour les classes de débits de crue < 100 l/s, la variabilité reste forte et peu organisée par le débit, comportement qui évoque l'existence d'une quantité mobilisable limitée mais variable. L'ajustement teneur/débit est significatif surtout au delà de 150 l/s (selon : *cfu* = $0,01Q^2$ - 0,8Q ; R^2= 0,75). Un tel ajustement suggère l'existence d'un réservoir non limité (dans la gamme des débits observés) et une capacité de mobilisation croissante avec l'intensification du ruissellement (qui pourrait résulter d'une double augmentation, à la fois des surfaces contributives et des capacités d'extraction).

Lors des fortes crues, le pic de teneurs en *E. coli* coïncide globalement avec le pic de débit puis décroit en général, très rapidement. Par analogie avec le comportement des formes de phosphore particulaire lors des crues (Dorioz *et al.,* 1998), on peut penser que cette évolution montre (1) que le transfert ne se limite pas à une mobilisation de stocks de bactéries accumulés d'une manière ou d'une autre dans le réseau hydrographique permanent (sédiments, déjections, bio-films) (2) que les ruissellements de sub-surface (descente de crue) sont peu significatifs en terme de charge fécale (3) que le ruissellement de surface est le phénomène dominant expliquant les flux. Un transfert préférentiel ne provenant que du chenal et de sa zone riveraine, pourrait cependant être le fonctionnement dominant lors des plus petites crues.

Réservoirs bactériens du bassin versant et acquisition de la charge en *E. coli* des eaux

La connaissance de la distribution spatiale des déjections dans l'alpage est un préalable indispensable pour caractériser les entrées à l'échelle station et à l'échelle bassin versant.

Les entrées de *E. coli* dans l'environnement pastoral

Dans les stations pâturées, la quantité de déjections présentes varie au cours de la saison. Un simple comptage permet de saisir cette évolution qui résulte d'un bilan entrée/ disparition. L'entrée correspond aux apports par les bovins et la disparition est l'aboutissement d'une évolution de l'état physique des bouses associant dessiccation, fragmentation et dispersion sous l'effet de la pluie et d'activités biologiques (insectes coprophages notamment). Ces 2 dynamiques inverses sont contrôlées en grande partie par les facteurs du milieu qui, par ailleurs, déterminent le faciès pastoral des stations (place dans le circuit de pâture, accessibilité pour les animaux, sols et topo-climat). L'évolution des quantités de déjection *(figure 6; tableau 3)* au cours de la saison se différencie donc selon les caractéristiques stationnelles. On distingue ainsi :

1) Les stations dont la quantité moyenne de déjections, tout en restant basse, s'accroît régulièrement suivant le modèle (7) ; le paramétrage de ce modèle est variable selon les faciès pastoraux concernés *(tableau 3)*. Il s'agit de stations où la fréquentation des animaux est limitée soit par l'accessibilité (cas des hautes herbes à Trisète), soit par le mouvement (zones de chemins où se déplacent collectivement les troupeaux), soit par l'inappétence marquée et constante de la végétation (cas des nardaies ou des bas-marais). En fin de saison les bouses occupent une part faible de la surface (<1% au maximum). Le modèle d'ajustement traduit pour l'essentiel que l'accumulation de déjections n'interfère pas avec la disponibilité des ressources fourragères ou l'usage de la station.

2) Les stations dont la quantité moyenne de déjection est élevée mais variable dans la saison. Il s'agit des zones reposoir et des gazons à Pâturin (zones fréquentées quotidiennement du fait de leur appétence et de leur accessibilité), qui sont les véritables lieux d'accumulation de l'alpage. Au-delà d'un maximum de densité occupant jusqu'à 3 % de la surface de la station, le stock de déjections décroit lentement. Nos observa-

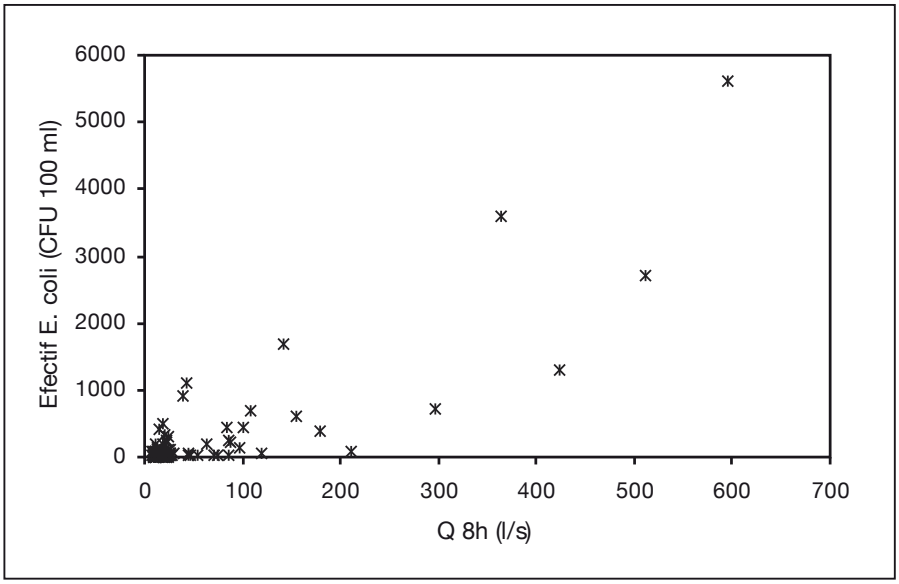
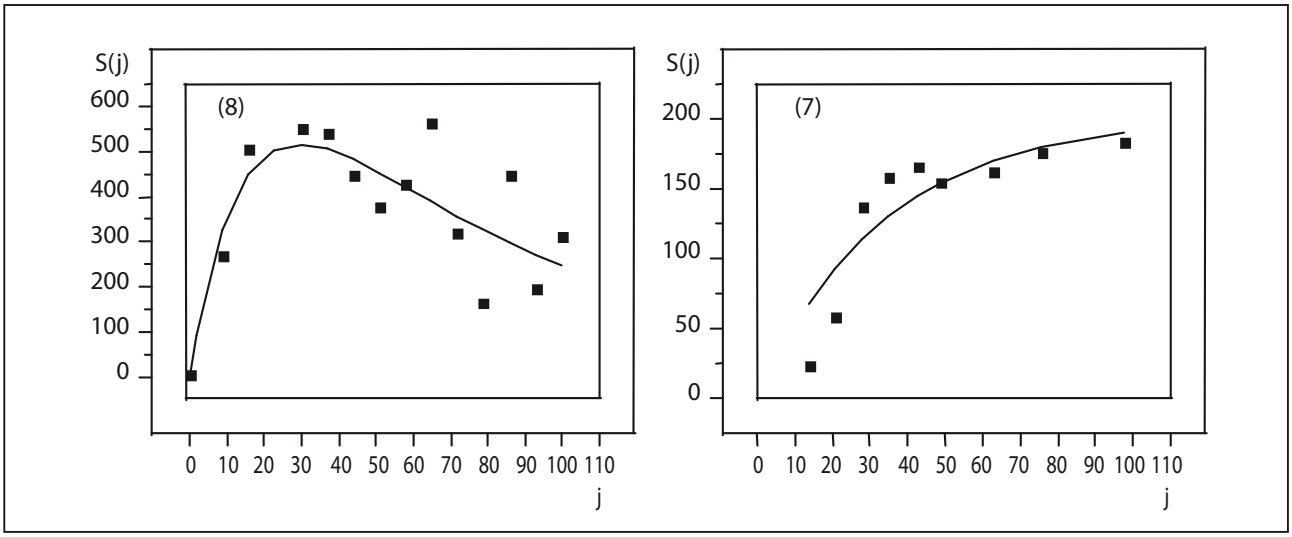


Figure 5 - Débit et effectifs de *E. coli* à l'exutoire du bassin versant (2005 ; Q moyen et échantillons intégrés sur 8 h).
Figure 5 - *Numbers of E. coli and water discharge(Q) at the outlet of the studied watershed.*

Figure 6 - Les deux modèles types d'évolution de la quantité de déjections bovines à l'échelle station, dans l'alpage étudié ; les ajustements présentés correspondent aux comptages réalisés dans un faciès à hautes herbes (7) et un faciès à Pâturin (8) (j : jours ; S(j) : nombre de bouses. ha^{-1} - début des observations j = 0, le 29 juin).
Figure 6 - *Typical regression models describing the seasonal evolution of the cowpats numbers at the plot scale in the studied rangeland area; two cases of decreasing (8) and constant (7) deposition rates, are shown, with the model (thin line) fitted to observations (j : days ; S(j); numbers per ha - j=0, june the 29).*



tions montrent que cette évolution résulte principalement d'une gêne pour l'accès aux ressources fourragères ou à la place de couchage, due au salissement de l'herbe et du sol par les déjections. Cette dynamique s'ajuste sur le modèle (8) de façon globalement satisfaisante (compte tenu des incertitudes sur les dénombrements).

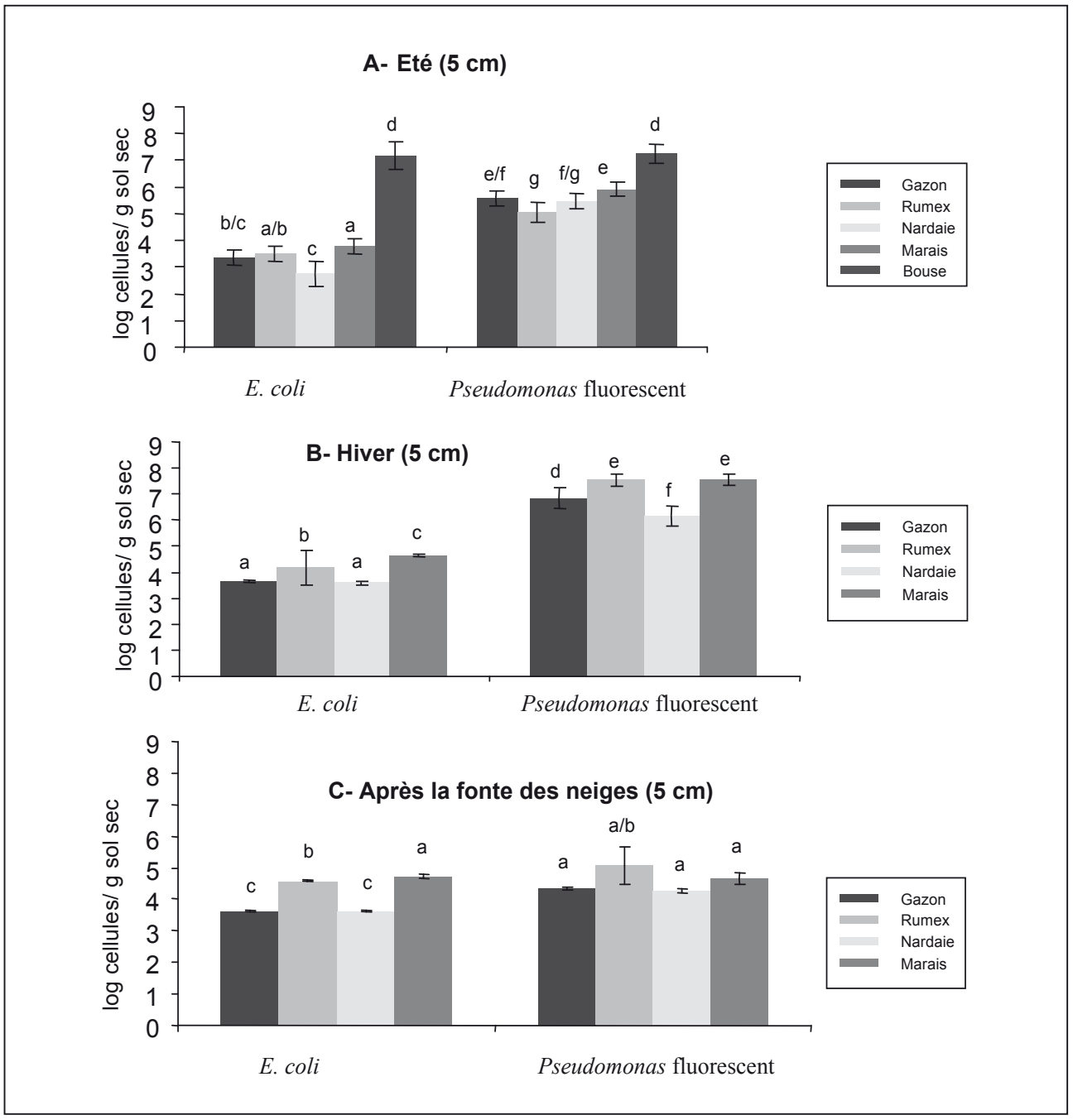
Partant des modèles développés pour rendre compte des distributions temporelles des divers faciès et de la cartographie des faciès végétaux, il est possible de simuler, à l'échelle de l'alpage, la distribution *(figure 2)* et l'état de vieillissement physique de l'ensemble des déjections (Trévisan *et al.,* 2010).

Les déjections, stock primaire de *E. coli*

Les déjections sont des lieux de survie et de stockage significatifs *(figure 7A)* mais transitoires d'*E. coli* (1 à 2 mois l'été, puis le cas échéant persistance hivernale sous le man-

Figure 7 - Dénombrements des populations d'*E. coli* et *Pseudomonas* fluorescents (bactéries cultivables) dans les différentes stations pastorales au cours de (A) l'été (juillet à octobre 2005) (prélèvements à -5 cm), (B) l'hiver (février 2006) sous le manteau neigeux (prélèvements à -5 cm) et (C) : après la fonte des neiges (mai 2006) (prélèvements à -5 cm). Les traitements présentant des différences significatives (ANOVA, P < 0,05) sont indiqués par des lettres différentes. Les résultats sont exprimés en log du nombre de cellules par gramme de sol sec et représentent la moyenne de tous les échantillons de la période considérée (de 3 en hiver à plus de 250 en été).

Figure 7 - *Numbers of Escherichia coli and fluorescent Pseudomonas spp in the top soil layers (-5cm) (A) during the pasturing season (July –octobre 2005) (B) in winter under snow cover (February 2006), (C) just after snow melting (May 2006) and for each type of pasture unit studied . Results are expressed as log cells g^{-1} dry matter and represent the means ± standard deviations for all the periods considered. The statistical relationship between the treatments for each sampling (ANOVA, P<0.05) are indicated by letters a, b, and c.*



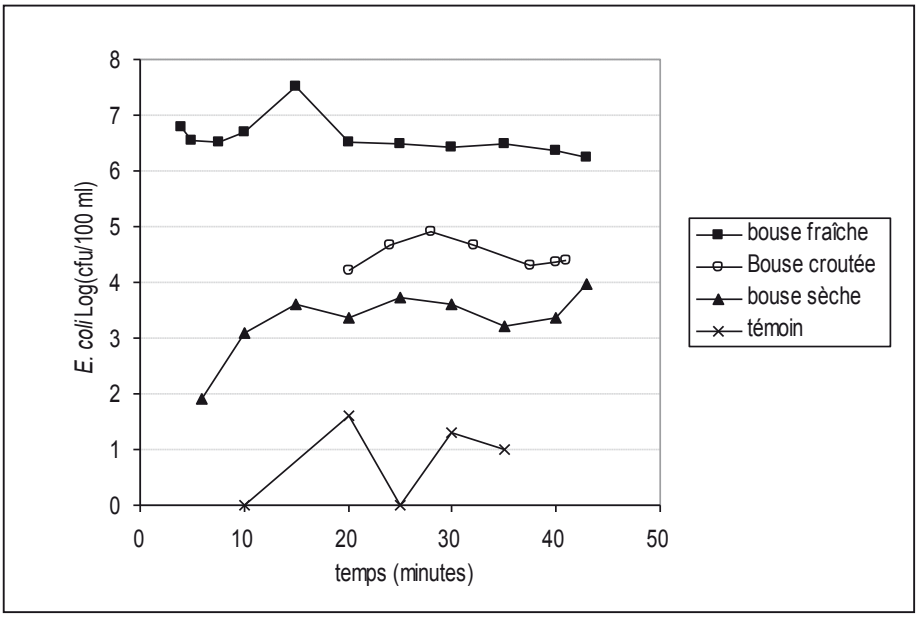


Figure 8 - Teneurs en *E. coli* du ruissellement sous pluie artificielle, en fonction de l'état physique des déjections ; comparaison avec un témoin, une surface de sol exempte de déjections (site : gazon à Pâturin, le temps est mesuré depuis le début du ruissellement).

Figure 8 - *Numbers of E. coli in surface runoff waters generated by artificial rainfall events applied to fresh, crusted, and desiccated cowpats and a control without cowpats. Time is measured from the beginning of rainfall.*

teau neigeux, jusqu'au printemps). Les teneurs globales en *E. coli* des bouses restent élevées (10^7 cfu/g matières sèches) -quasiment aussi élevées que dans le rectum des animaux- tant que l'amas organique qui les contient persiste. Un phénomène assez similaire est observé pour les populations de STEC (Fémaux, 2007) : les effectifs qui sont, dans les bouses fraîches, de l'ordre de 10^4 à 10^5 cellules/g ms ne diminuent que faiblement lors des suivis (en 1,5 mois, diminution de seulement 1 log/g ms). Si en surface des déjections la dessiccation et les effets des UV (exposition forte en montagne) provoquent probablement une forte mortalité des bactéries fécales (Kress et Gifford, 1984), dans la masse de la matière fécale, la situation reste donc favorable à la survie. La survie s'accompagne d'évolutions des caractéristiques génétiques des micro-organismes. On observe ainsi, dans nos sites, avec le vieillissement des bouses, une certaine réduction de la diversité génétique des populations d'*E. coli* mise en évidence par les techniques moléculaires (Texier 2008).

Au total, à teneur constante, les stocks diminuent sous l'effet de la diminution de la masse organique due à la combinaison dessèchement, fragmentation, dispersion. En été, le volume des bouses et de leurs stocks en *E. coli* se réduit de 90 % en 2 ou 3 semaines. Le matériau résiduel une fois sec est relativement hydrophobe, ce qui est déterminant pour les interactions ultérieures avec le ruissellement.

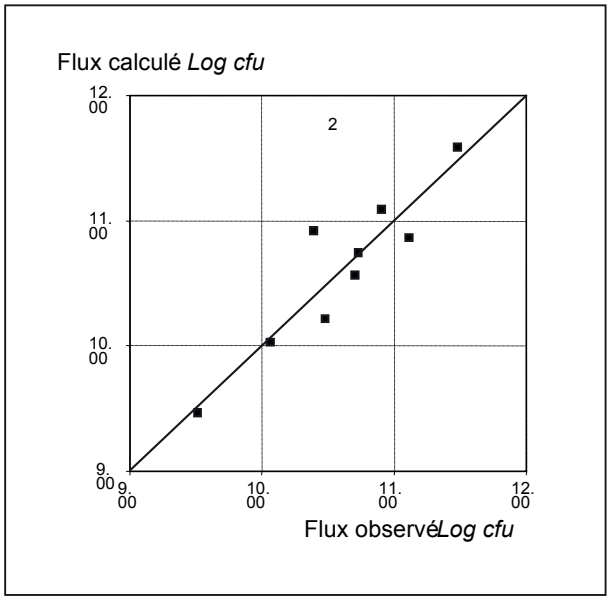
Les populations d'*E. coli* dans les sols, des stocks secondaires

La suite du travail a consisté à s'intéresser aux stocks secondaires issus d'une introduction récente, ou ancienne, depuis les déjections vers les horizons de sol sous-jacents.

Le dispositif de suivi révèle une étonnante stabilité des effectifs d'*E. coli* : (1) dans les premiers cm de sols (prélèvements vers -5 cm, voir *figure 7)* ceci indépendamment de l'état trophique (C/N, pH) (2) dans des horizons plus profonds (prélèvements autour de -25 cm) quand il s'agit de sols argileux et confinés (circulation d'eau lente et temporairement anoxique). Les teneurs observés sont de l'ordre de 3,5 log à 4 log cfu *E. coli*/g de sol sec, durant toute l'année, que les prélèvements soient effectués sous une bouse récente ou dans une zone de la station non affectée par les déjections de l'année. Les apports cumulés de déjections au cours de la saison ne modifient pas cette tendance à la stabilité de façon significative, quel que soit le faciès. A l'inverse, dans les horizons profonds et filtrants, la présence d'*E. coli* est sporadique et liée à l'existence de déjections récentes. Les procédures et résultats détaillés sont disponibles dans Texier *et al.,* 2008. Les populations STEC sont beaucoup moins rémanentes dans les sols qu'*E. coli* et ne sont détectées dans les sols (à -5 et -25 cm) que directement sous des matières fécales contaminées par ces populations (Frémaux, 2007 ; Frémaux *et al.,* 2010).

Avery *et al.* (2004) dans une des rares études, à notre connaissance, consacrée à la survie de bactéries fécales en zone pâturée, enregistre une persistance d'*E. coli* dans le sol pouvant atteindre 5 mois. Le résultat inattendu n'est donc pas la survie préférentielle d'*E. coli* dans la zone de surface riche en racines et matières organiques et dans les horizons de subsurface argileux, mais la stabilité des teneurs enregistrées et donc des stocks, tout au long de la saison, hiver compris, indépendamment du type de station, de la densité et la proxi-

Figure 9 - Flux bactériens calculés et observés lors de neuf averses, durant la saison pastorale (Trévisan *et al.,* 2010).
Figure 9 - *Fluxes of E coli observed and predicted, 9 storm flows events during pasturing season.*



mité des déjections. L'étude de la structure génétique de ces populations stabilisées montre qu'il s'agit de populations spécifiques, différentes de celles des bouses et des déjections des mammifères sauvages testées (détails dans Texier*,* 2008). Tout ceci permet de proposer l'idée que les stocks secondaires du sol sont constitués de *E. coli* fixés pour de longues durées ou « naturalisés ». Cette possibilité pour *E. coli* de s'installer durablement dans l'environnement est encore très peu décrite dans la littérature (Byappanahalli *et al.,* 2006 ; Ishi *et al.,* 2006).

Le concept de capacité biotique, qui rend compte de l'existence, pour certains types de microorganismes, d'un équilibre dynamique associé à une capacité d'accueil limitée, semble convenir pour rendre compte de cet état de quasi-stabilité des *E. coli* du sol, observé durant 2 années consécutives. Une inoculation supérieure à cette capacité limite la survie des populations introduites en raison de contraintes d'accès aux nutriments et d'un déplacement des populations vers les macropores où elles sont plus exposées aux lessivages et à la prédation. Inversement, au dessous d'une certaine densité la population peut se développer si les ressources nutritives et hydriques sont satisfaisantes, d'où la stabilité des teneurs dans les milieux adaptés. La capacité biotique associée à la naturalisation des *E. coli* semble dépendre de caractéristiques particulières des horizons concernés (matières organiques, argile, confinement). Ces caractéristiques suggèrent un effet de facteurs structuraux favorables créant des microsites « refuges ».

Pseudomonas fluorescents se comporte différemment *(figure 7)*. Cette bactérie tellurique type présente des effectifs 10 à 1 000 plus élevés que ceux d'*E. coli* dans les mêmes situations. Les effectifs sont très fluctuants, très élevés en été et en hiver, très bas au début du printemps (par exemple entre 4 et 8 log cfu/g de sol sec, dans le sol sous Rumex), variabilité qui traduirait une stratégie différente, de type « opportuniste » inféodé à l'activité du système racinaire (Roszack et Colwell, 1987 ; Texier, 2008).

Acquisition de la charge en *E. coli* des eaux de surface : les transferts réservoirs environnementaux (stocks) – écoulements– exutoire

Flux verticaux

A l'échelle du profil

L'acquisition d'une charge en bactéries fécales lors de la percolation de l'eau dans des sols ayant reçu des fertilisants organiques est de longue date bien documentée dans la bibliographie (voir, l'excellente revue de Oliver *et al.,* 2005). Les mouvements hydriques verticaux de bactéries peuvent s'effectuer sur des profils entiers (>1 m) ; ils sont d'autant plus rapides que la texture est grossière et sontsouvent associés à des effets de flush. De tels transferts hydriques, depuis les déjections vers les horizons profonds, expliquent le régime de contamination observée dans les sols filtrants de notre site d'étude (il s'agit de sols sur matériaux alluviaux ou colluviaux à forte porosité d'assemblage ou encore sols acidifiés micro-agrégés perméables). Dans les horizons profonds de ces sols à fonctionnement ouvert, les stocks d'*E. coli* sont transitoires, liés aux périodes pluvieuses et à la présence simultanée de déjections à la surface des sols échantillonnés. Les profils génétiques des populations bactériennes détectées dans de telles conditions, ont des caractéristiques phylogénétiques semblables à celles contenues dans les matières fécales fraîches (Texier*,* 2008). Les *E. coli* STEC dans les mêmes conditions, persistent tant que des matières fécales contaminées sont présentes à la surface du sol (Frémaux, 2007 ; Frémaux *et al.,* 2010). De tels fonctionnements supposent, un lien de transfert direct avec les déjections récentes, donc une dynamique verticale et des conditions de survie trop précaires pour permettre une installation durable à des teneurs supérieures au seuil de détection.

A l'échelle basin versant

Durant la saison pastorale, l'écoulement de base du bassin étudié, alimenté par des infiltrations survenant en partie dans les zones pâturées, représente environ 80 % du volume d'eau acheminé à l'exutoire, mais sa contribution au flux d'exportation de *E. coli* n'est que de 5 %. Il est impossible de faire la part,

dans cette charge de basses eaux, entre celle provenant de transferts hydriques verticaux à travers sols et sous-sols et celle qui provient d'apports directs de déjections dans les ruisseaux. Ni la présence régulière de STEC à l'exutoire, ni les quelques traçages génétiques réalisés sur les *E. coli* de l'exutoire en basses eaux et montrant des populations très apparentées à celles déjections récentes (Texier, 2008), ne permettent de trancher.

Flux latéraux : effets du ruissellement sur les divers types de stocks et relations flux-stocks

Les mouvements latéraux de l'eau sont à l'origine de l'essentiel du flux bactérien à l'exutoire. Ils correspondent majoritairement à des transferts associés au ruissellement de surface.

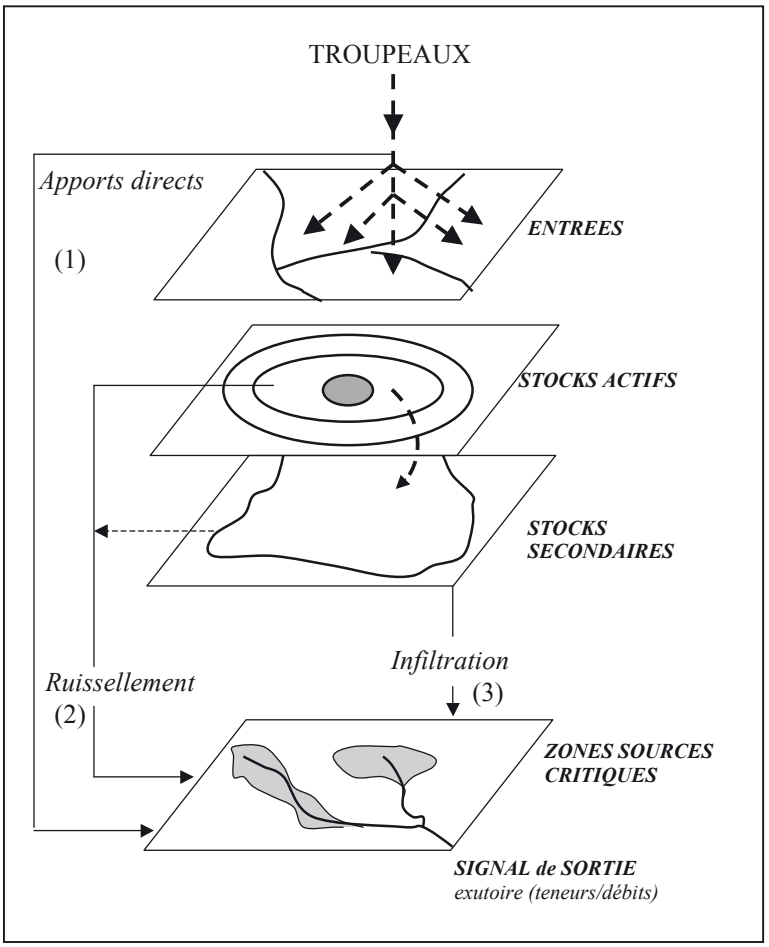
A l'échelle station

Les stocks de *E. coli* susceptibles d'interagir avec les ruissellements se trouvent dans les déjections aux divers stades de dessiccation-fragmentation et dans l'horizon de surface du sol de la zone pâturée. Les teneurs en *E. coli* de ces 2 réservoirs restent assez élevées tout au long de l'année mais les conditions de leurs mobilisations sont très variables comme le montre les expérimentations de ruissellement artificiel réalisées sur site. L'intensité d'extraction des *E. coli* des déjections par le ruissellement dépend de leur état physique *(figur*e 8). L'émission est plus forte quand la déjection est récente ; les teneurs des eaux ruisselant sur des bouses fraiches atteignent 7.5 log cfu/100 ml, contre 3 à 4 log seulement pour les matériaux desséchés. Sur les surfaces exemptes de déjections de la même station, la charge du ruissellement reste, tout au long de l'expérience, bien en deçà des valeurs précédentes (<200 cfu/100 ml). Ceci montre que le stock spécifique aux horizons de surface des sols (les *E. coli* naturalisés), malgré son importance quantitative, est très peu mobilisable par le ruissellement. La baisse de l'extractibilité observée lors du vieillissement des déjections a été aussi décrite par Kress et Gifford (1984) et Adam (2005).

Les prélèvements ponctuels réalisés lors de la fonte des neiges dans la zone pâturée complètent la gamme des situations testées

Figure 10 - Organisation générale du système de transfert de *E. coli* à l'échelle bassin versant.

Figure 10 - *Schema of the transfer system of E coli at the watershed scale.*



lors de ces expérimentations. Le ruissellement provenant des névés et s'écoulant sur des sols contenant encore des résidus de déjections automnales, contient 10-200 cfu/100 ml (8 observations, mars 2005). En l'absence de résidu, dans une situation équivalente, simultanément la charge de l'eau ruisselante est toujours très basse (<10 cfu/100 ml, 5 observations)

A l'échelle basin versant

Le ruissellement se manifeste à l'exutoire soit en période de fonte des neiges, soit lors des crues pluviales. Il est marqué par des évolutions classiques débit-conductivité et débit-concentrations de traceurs (PO_4, NO_3, SO_4) ainsi que par un accroissement systématique et marqué des teneurs et flux de bactéries.

Lors de la fonte des neiges, les volumes d'eau transférés à l'exutoire sont importants (le débit moyen est pendant plusieurs semaines de l'ordre de grandeur de celui des crues estivales). Les teneurs en *E. coli* (*tableau* 2) sont relativement faibles (<10 cfu/100 ml) bien que le ruissellement sur la zone pâturée soit alors généralisé et qu'il subsiste sur les sols de nombreux résidus de bouses

(densité en résidus évaluée en moyenne à 1 par 300 m² dans les gazons à Pâturin). Un effet de dilution ne peut être évoqué pour expliquer les valeurs relevées puisque de telles teneurs s'observent depuis la fin de l'automne précédent *(figure* 3). En fait, pendant la fonte des neiges, les eaux de ruissellement se chargent peu au contact des réservoirs de *E. coli* alors disponibles, c'est-à-dire les zones rhizosphériques et les résidus de bouse, du fait de la faible mobilité des *E. coli* que ceux-ci contiennent (voir ci-dessus). L'importance quantitative des stocks et la saturation générale en eau des sols ne sont donc pas des conditions suffisantes pour générer des flux et des teneurs importants.

La mobilité des *E. coli* est également un des éléments explicatifs clé de la variabilité des transferts vers l'exutoire lors des crues estivales, comme le montre la modèlisation mise au point, dans le cadre de Pastor, par Trévisan *et al.,* (2010). Le modèle reproduit de façon très satisfaisante les flux à l'exutoire en période de crue *(figure 9).* Les calculs *(voir équation 1)* rendent compte : du fonctionnement hydrologique majeur du bassin (concentration des flux d'eau latéraux dans des situations topographiques de bas de versant, saturation des sols et ruissellement qui en résulte), de la distribution spatiale des déjections et enfin, de la mobilité des *E. coli* associés à celles-ci. La composante mobilité s'avère toujours nécessaire pour obtenir un modèle pertinent. Dans le modèle mis au point, la mobilité intègre, en plus de l'effet de l'état physique des déjections sur la mobilité hydrique initiale des bactéries, l'existence d'une rétention non négligeable à la surface et/ou dans les sols (après ré-infiltrations) durant les trajets des écoulements entre zones de contamination du ruissellement et réseau hydrographique.

Les simulations réalisées sur ces bases confirment que :
1) l'essentiel de la charge est acquis au voisinage même du réseau hydrographique (dans un environnement de quelques mètres à décamètres),
2) les déjections récentes contribuent pour plus de 90 % du flux total de *E. coli* à l'exutoire du bassin versant ; selon les averses, 80 à 95 %, des bactéries mobilisées ne parviennent pas à l'exutoire, du fait de rétentions et/ou de ré-infiltrations.

Les bactéries n'étant pas des colloïdes inertes ; la rétention pourrait, au moins partiellement s'expliquer par une fixation sur du matériel minéral ou organique, en relation avec les propriétés de surface des cellules. Ce processus pourrait intervenir dans les sols au niveau des zones de ré-infiltration de la lame ruisselante et constituer un possible mode d'entrée dans les stocks rhizosphériques.

L'approche quantifiée des liens entre stocks bactériens associés aux déjections (quantité, mobilité) et flux à l'exutoire, met en évidence deux caractéristiques clés de la relation qualité des eaux–troupeaux :
1) le planning de pâturage est le déterminant majeur de la forte variabilité à l'exutoire : la quantité totale de bactéries susceptibles d'être extraites par les écoulements demeure très élevée pendant toute la période estivale en raison d'un apport quotidien en bouses fraîches ; elle décroît rapidement dès le départ du troupeau, avec la dessiccation des bouses ; ces évolutions déterminent la forte et rapide réponse en terme de qualité microbiologique des eaux de l'exutoire, à la présence ou absence du troupeau.
2) Les zones sources critiques sont de taille restreinte : elles ne correspondent en fait, dans la zone étudiée, qu'à quelques dizaines voire quelques centaines de bouses (soit au total des surfaces < 3 ha par rapport aux 100 ha pâturés), situées, selon le débit et l'état des sols, soit aux franges du réseau hydrographique, soit dans les zones de fonds de talwegs saturées par des apports d'eau du versant ; la quantité de *E. coli* exportée à l'exutoire, ne représente donc qu'une part très faible du total des *E. coli* potentiellement mobilisables au moment des crues dans l'ensemble du bassin versant, à peine quelque ‰.

CONCLUSION-DISCUSSION

Paramètres et système de transfert d'*E. coli* à l'échelle bassin versant

D'un point de vue général, le transfert d'un polluant dans un bassin versant vers son exutoire, résulte du couplage entre, des processus qui assurent la dispersion et la répartition du polluant dans l'espace et dans le temps, des processus qui contrôlent son stockage (fixation plus ou moins irréversible dans des réservoirs), sa transformation éventuelle et enfin, des processus réalisant le transport hydrique vers l'exutoire. L'application de ce schéma au cas d'une contamination des eaux par la bactérie *E. coli* en zone de pâturage est présentée par la *figure 10.* La circulation des troupeaux détermine la distribution des entrées via les déjections ; cette co-introduction crée divers types de réservoirs environnementaux plus ou moins durables et mobilisables (déjections récentes, résidus de déjections après dessiccation, certains horizons de sols…). Pendant la phase de stockage, divers processus biologiques à cinétiques lentes (de l'ordre du mois) peuvent se développer (survie/mortalité mais aussi adaptations éco-physiologiques, modifications génétiques des populations…). Ces processus biologiques sont importants à considérer, certes parce qu'ils atténuent le signal d'entrée mais aussi parce qu'ils le transforment, ouvrant ainsi la perspective de tracer la contribution d'un réservoir particulier. Dans le cas étudié, les données génétiques disponibles (Texier, 2008) montrent que les contaminations à l'exutoire, lors des prélèvements, sont très largement dues à des déjections récentes.

La matière organique des déjections et celle humifiée des horizons rhizosphériques, jouent un rôle clé dans l'élabora-

tion et l'évolution des réservoirs environnementaux d'*E. coli.* Elle permet des stockages de relativement longues durées au niveau des déjections (de l'ordre du mois en été, de la saison sous manteau neigeux) et est associée à la capacité des horizons rhizosphériques d'assurer des stockages de très longues durées (années) de souches de *E. coli*. Ce phénomène de survie longue durée dans les sols est peu reconnu et documenté. Les mécanismes de la rétention et surtout de la naturalisation de ces bactéries introduites dans les sols restent à éclaircir.

Les réservoirs de *E. coli* d'un bassin versant sont interconnectés à l'échelle de la station, grâce à des transferts hydriques locaux (infiltration ré-infiltration) et biologiques (brassage par la faune du sol). Pendant les périodes d'écoulements d'eau sur et dans les sols, seuls certains réservoirs sont facilement mobilisables (stocks actifs, *figure 10*) et sont donc susceptibles de fournir un flux d'exportation significatif, s'ils se situent dans une zone hydrologiquement active et sont connectés à l'exutoire (zone source critique). Les transports par les écoulements se caractérisent par des cinétiques rapides, des durées de l'ordre de la journée, insuffisantes pour que l'état biologique des populations bactériennes se modifie ; dans ce contexte les bactéries peuvent alors être considérées comme de simples colloïdes chargés, tendant plus ou moins à se fixer, à coaguler, décanter et à s'agréger à des composés organiques et minéraux (notamment argiles).

Tous ces fonctionnements, lents et rapides, contribuent au système de transfert et à la variabilité des flux exportés. La modélisation développée dans Pastor rend compte avec succès de cette variabilité à l'exutoire lors des crues, en quantifiant et spatialisant les composantes prépondérantes du système : la dispersion des entrées, l'état et la mobilité des stocks dans les réservoirs, les ruissellements.

Dans le milieu prairial, le ruissellement se développe principalement sur les zones imperméabilisées du fait du piétinement et sur les sols saturés en eau (bas de versant). C'est l'agent essentiel d'extraction des bactéries fécales. Les principaux stocks actifs, mobilisables lors des crues sont surtout les déjections récentes. Leur abondance dans les zones hydrologiquement actives est donc un facteur explicatif clé de la variabilité des charges en *E. coli* observées à l'exutoire. Cette prédominance du ruissellement n'exclut pas une contribution de l'infiltration dans le cas de sols et sous- sols perméables et des apports directs au réseau hydrographique par les animaux se révélant en basses eaux.

L'efficacité des extractions par l'eau, qu'elle soit ruisselante ou percolante, dépend de la relation bactéries-supports. L'extraction peut être notamment très faible malgré des stocks quantitativement élevés. Ainsi, les eaux de ruissellement se chargent peu au contact des stocks secondaires contenus dans les horizons rhizosphériques ou les déjections sèches, ceci malgré leur contenu élevé en *E. coli.* La microporosité des sols, les phénomènes d'adhésion, la cohérence physique et la mouillabilité des matériaux, sont autant de phénomènes susceptibles d'expliquer une forte rétention et des faibles rendements d'extraction par les écoulements.

Portée opérationnelle des résultats

La présence des troupeaux, sur le bassin versant étudié, est toujours associée à une charge significative en *E. coli* et plus généralement en bactéries fécales (Texier, 2008) dans les eaux de surface. Par contraste, hors du territoire pâturé ou hors des périodes de pâturage, les teneurs sont toujours basses ou négligeables. Un tel constat n'est ni récent ni spécifique à notre site d'étude : une relative dégradation de la qualité microbiologique des eaux en relation avec le pâturage, est couramment mise en avant par les professionnels de l'eau, y compris régionalement (Schaffter, 1999). Le risque en résultant s'avérant actuellement difficile à maitriser, il est souvent envisagé, dans le cadre des protections de captage, de soumettre les exploitants agricoles à des contraintes difficilement acceptables car remettant en cause les fondements de leurs systèmes d'exploitation, même quand il s'agit de parcours extensifs. L'arrêt total du pâturage dans ces zones de protections est parfois préconisé ce qui pose d'autres problèmes, environnementaux et économiques.

Une meilleure connaissance du système de transfert peut probablement aider à construire des scenarios alternatifs en renforçant, à l'aval, la pertinence des contrôles en ce qui concerne les eaux captées et à l'amont, en améliorant la gestion des territoires pastoraux grâce à des aménagements mieux ciblés et spatialisés. Notre projet apporte quelques éléments de réflexion opérationnels sur (1) la valeur indicatrice d'*E. coli* en tant que traceur environnemental des contaminations fécales (2) la détermination de périodes à risques et la délimitation des zones sources critiques.

Intérêt d'*E. coli* en tant qu'indicateur de contamination fécale

E. coli est considéré comme un indicateur idéal de contamination fécale car présent spécifiquement dans le tractus intestinal des animaux à sang chaud, fortement excrété dans les matières fécales et présentant une survie transitoire mais suffisamment longue, dans l'environnement. Nos observations montrant l''aptitude de populations d'*E. coli* à survivre durablement (plusieurs années) dans certains sols tendraient *a priori* à remettre en cause cet indicateur. En fait, l'existence de ce stock n'affecte pas fondamentalement la valeur indicatrice d'*E. coli* puisque les populations en question sont peu extractibles par les écoulements et ont donc une faible probabilité d'être transférées vers les eaux. Les profils génétiques de ces populations n'ont d'ailleurs pas été retrouvés à l'exutoire du bassin étudié. Un autre cas reste à envisager, celui de trans-

ferts érosifs exportant des particules de terre avec un contenu éventuel en *E. coli*. Dans ce contexte, en cas de doute, ou pour appliquer le principe de précaution, il est possible, pour les contrôles de qualité microbiologique de l'eau, d'associer au dénombrement classique des *E. coli*, une détection moléculaire des STEC car ces sous-populations ne semblent pas présenter l'inconvénient de persister durablement dans les sols (Frémaux *et al.,* 2010).

Caractériser des zones sources critiques

Les niveaux élevés de *E. coli* à l'exutoire sont liés aux crues ; la charge bactérienne fécale provient alors de zones sources critiques, variables dans la saison en localisation et extension, mais toujours de superficies relativement restreintes (< 2% dans notre cas) et très découpées, soit à forts périmètres. Ces zones coïncident soit avec des secteurs associés à l'accès du bétail à l'eau, soit à des bas de talweg, de cône de déjections ou de solifluxions. Dans ces stations, le stock de déjections est renouvelé en permanence et un risque se maintient donc à un niveau élevé. Il est important de noter que les zones sources critiques présentent un régime hydrique favorable à l'herbe et sont donc souvent aussi des stations fourragères intéressantes (fournissant parfois des ressources fourragères à des périodes clés, en début et fin de saison). Cette contradiction est très liée au comportement animal dans le contexte de parcours extensifs. Il s'agit d'une situation probablement assez courante puisqu'il existe un lien assez général, au moins dans les Alpes, entre valeur pastorale, état des sols et régime hydrique.

Compte tenu des longueurs des rives ou des interfaces concernées, du caractère collectif des déplacements et de l'ampleur des moyens à mettre en œuvre pour empêcher les contacts troupeau – cours d'eau, il n'est pas facile de protéger systématiquement toutes les zones sources critiques, ou d'empêcher l'accès direct du bétail aux ruisseaux, par des fils de ceinture (ce qui serait l'arme absolue). On peut envisager une maitrise relative et raisonnée du problème par des aménagements ciblés visant les zones critiques correspondant à des secteurs d'abreuvement et de déplacements collectifs pour la traite ou l'accès aux quartiers supérieurs (Meals et Brown, 2006). Dans la pratique, l'installation d'abreuvoirs ou l'aménagement des zones de franchissement des cours d'eau principaux, facilite largement le contrôle de ce problème (Godwin *et al.,* 1996). Les autres protections ciblées permanentes envisageables sont celles des zones humides de type marais tourbeux (aucune valeur fourragère).

Une modification globale des itinéraires de parcours est une alternative pouvant contribuer à limiter les risques. Il s'agirait alors de concevoir des parcours éloignant au maximum les animaux des zones contributives estivales saturées en eau pour des précipitations faibles, tout en maintenant le potentiel fourrager global. Ceci suppose une meilleure valorisation de secteurs à bonne valeur pastorale situés hors des zones contributives estivales (voire en introduisant une fertilisation minérale). Bien entendu tous ces scénarios sont à étudier au cas par cas, les mesures de protection étant très dépendantes de l'organisation et des conditions d'utilisation des surfaces pastorales.

REMERCIEMENTS

Le projet PASTOR a impliqué une équipe interdisciplinaire rassemblant des scientifiques et techniciens appartenant à l'UMR CARRTEL INRA Thonon-Université de Savoie, l'UMR CNRS Ecologie microbienne Lyon, l'ENV Lyon et à l'UMR SAS INRA Rennes. L'émergence de ce projet doit beaucoup à M Robert (décédé depuis) et son développement à L Jocteur-Montrozier : qu'ils soient ici chaleureusement remerciés. Nos remerciements vont aussi aux 2 relecteurs attentifs et constructifs, ainsi qu'aux alpagistes des Cornettes.

BIBLIOGRAPHIE

Adams R., 2005 - Overland flow delivery of faecal bacteria to a headwater pastoral stream. *J. Applied Microbiol.* 99, 126-132

Ascheford K.E., Day J.-M. et Fray J., 2003 - Elevated abundance infecting bacteria in soils. *Appl. Env. Microbiol.* 69, 283-289

Åström J, Carlander A., Sahlén K. and Stenström T.A., 2006 - Fecal Indicator and Pathogen Reduction in Vegetation Microcosms ; *Water, Air, & Soil Pollution,* 176, 1-4, 375-387

Avery S.M., Moore A., and Hutchison M.L., 2004 - Fate of *Escherichia coli* originating from livestock faeces deposited directly onto pasture. *Lett. Appl. Microbiol., 38 : 355-359.*

Byappanahalli, M.-N., Whitman R.-L., Shively D.-A., Sadowsky M.-J. and Ishii S., 2006 - Population structure, persistence, and seasonality of autochthonous *Escherichia coli* in temperate, coastal forest soil from a Great Lakes watershed, *Environmental Microbiology,* 8 : 504-513

Berg G., Eberl L., Hartmann A., 2005 - The rhizosphere as a reservoir for opportunistic human pathogenic bacteria, *Environmental Microbiology*, 7 (11) 1673–1685

Bornard A. et Dubost M., 1992 - Typologie de la végétation des alpages laitiers des Alpes du Nord. 25 fiches techniques. G. I. S. Alpes du Nord, Chambéry.

Cassell A, Kort R.-L., Meals D.-W., Aschman S.-G., Anderson D.-P., Rosen BH and Dorioz J.-M., 2002 Use of mass balance modelling to estimate phosphorus and bacteria dynamics in watersheds, *Water Sciences and Technology,* vol 45, 9, 157-168

Coté D., 1994 - Problématique de contamination de la nappe phréatique par le lessivage de l'ammonium et des bactéries fécales des engrais de ferme - *Agrosols*, 7 (1) 20-25

Crane S.-R. et More J.-A., 1984 - Bacterial pollution of ground water : a review, *Water Air and Soil Pollution.*, 27, 67-83

Dorioz J.-M. et Party J.-P., 1987 - Dynamique écologique et typologie de territoire pastoraux des alpes du nord - Analyse de l'organisation agro-écologique d'un alpage de référence. *Acta Oecologica - Oecol. Applic.*, 8 (3), p. 257-280

Dorioz J.-M., 1987 - Dynamique écologique et typologie des territoires pastoraux des Alpes du Nord. 2. Analyse des facteurs de la valeur pastorale. *Acta Oecologica. Oecol. Applic*., 8 (4), 283-300

Dorioz J.-M., Cassel A., Orand A., and Eisenman K., 1998 - Phosphorus storage, transport and export dynamics in the Foron river watershed. *Hydrol. Processes*, vol. 12, 285-309

Dorioz J.-M., Trévisan D., Texier S., Prigent-Combaret C., Goudron M.-H., Jocteur-Monrozier L., Moennne-Loccoz Y., Faivre P., Quetin, P. et Poulenard J., 2008 - Pratiques pastorales et qualité microbiologique des eaux : rôle des facteurs édaphiques et hydrométéorologiques dans la survie et le transfert à l'échelle bassin versant, de populations de bactéries fécales bovines. Résumé opérationnel, GESSOL 2, MEDDAT, Paris 28 p.

Drevet J., 2004 - Etude hydrogéologique du bassin versant de la montagne de Bise. Mem. IUT Montagne, Université de Chambéry, 56 p.

Frémaux B., 2007 - Écologie des *Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxines (STEC) dans les effluents d'élevages bovins et le sol. Thèse Université Claude Bernard Lyon1 et INSA-Lyon

Frémaux B., Prigent-Combaret C., Beutin L., Gleizal A., Trévisan D., Quetin P., Jocteur-Monrozier L., Vernozy-Rozand C., 2010 - Survival and spread of Shiga-toxin producing *Escherichia coli* in alpine pasture grasslands. *J. App. Microbiol*, 12 :1332-1343

Godwin D.-C., Miner J.-R., 1996 - The potential of off-stream livestock watering to reduce water quality impacts. *Bioresour. Technol*. 58 :285-290

Gril J.-J., Dorioz J.-M., 2002 – Des bassins versants de recherches aux bassins opérationnels : quels bassins versants pour connaître et maîtriser les pollutions diffuses ? *Ingénieries*, 39 pp. 3-16

Ishii S., Ksoll W.-B., Hicks R.-E. and Sadowsky M.-J., 2006 - Presence and growth of naturalized *Escherichia coli* in temperate soils from Lake Superior watersheds. *Appl. Environ. Microbiol*., 72 : 612-621

Jamieson R., Gordon R., Joy D., Lee H., 2004 - Assessing microbial pollution of rural surface waters. A review of current watershed scale modelling approaches. *Agricultural Water Management* 70, 1-17

Jiang X, Morgan J, Doyle M.-P., 2002 - Fate of *Escherichia coli* O157 :H7 in manure-amended soil. *Appl Environ Microbiol*. 68 (5) : 2605-9

Johnson L.-K., Brown M.-B., Carruthers E.-A., Ferguson J.-A., Dombek P.-E. and Sadowsky M.-J., 2004 - Sample size, library composition, and genotypic diversity among natural populations of *Escherichia coli* from different animals influence accuracy of determining sources of fecal pollution. *Appl. Environ. Microbiol*. 70 : 4478-4485

Kress M. and G.-F. Gifford, -1984 - Fecal coliform release from cattle fecal deposits. *Water Resour. Bull*. 20 : 61-66.

Legros J.-P., Party J.-P. et Dorioz J.-M., 1987 - Répartition des milieux calcaires, calciques et acidifiés en haute montagne calcaire humide - conséquences agronomiques et écologiques. *Doc. cartogr. Ecol.,* 30, pp137-157.

Leite L.-A., 1990 - Réflexions sur l'utilité des modèles mathématiques dans la gestion de la pollution diffuse d'origine agricole. Thèse doctorat, Ecole Nationale des Ponts et Chaussées, 342 p + annexes.

Meals D.-W. and Braun D.-C., 2006 - Demonstration of methods to reduce *E. coli* runoff from dairy manure application sites. *J. Environ. Qual*. 35 : 1088-1100.

Michel P., De Andrade-Lima J.R.P., Brigas-Poulin P. et Ravel A., 2000 - Développement d'indices agroécologiques pour évaluer la pression hygiénique de la production animale dans les régions rurales du Québec. Université de Montréal, 85p

Oliver D.-M, Clegg C.-D,. Haygarth P.-M. and Heathwaite A.-L., 2005 - Assessing the Potential for Pathogen Transfer from Grassland Soils to Surface Waters ; *Advances in Agronomy*, 85, 125-180

Roszac D.-B. and Colwell R.-R., 1987 - Survival strategies of bacteria in the natural environment. *Microbiol Rev.* 51 :365-379.

Schaffter N., 1999 - Impact de l'exploitation des Alpages sur la qualité des eaux. Thèse EPFL Lausanne, 158p

SMDR, 2003 - Soil Moisture Distribution and routing Model, version 2.0. Documentation, Cornell University,,88p. http://www. aben.cornell.edu/swlab/SoilWaterWeb/Research/smdr/index.html

Texier S., 2008 - Dispersion et survie des populations de bactéries fécales bovines dans le sol des écosystèmes pâturés subalpins : conséquences sur le transfert bactérien dans les bassins versants. Thèse, Université de Savoie, 175 p.

Texier S., Prigent-Combaret C., Gourdon M.-H., Porier M.-A., Faivre P., Dorioz J.-M., Poulenard J, Jocteur–Montrozier L., Moenne–loccoz Y. and Trévisan D., 2008 - Persistence of culturable *Escherichia coli* fecal contaminants in dairy alpine grassland soils, *J. Environ. Qual*. 37 p. 2299, 2310

Trévisan D., VansteelantJ.-M., Dorioz J.-M., 2002 - Survival and leaching of fecal micro-organisms after slurry spreading on mountain hay meadows : consequences for the management of water contamination risk. *Water Research*, 36, 275-283

Trévisan D., Quétin P., Combaret Prigent C., Poulenard J., Merot P. et Dorioz J.-M., 2010 - Mapping of critical source areas for diffuse fecal bacterial pollution in extensively grazed watershed by inverse analysis. *Water research*, 44, 13

Smith M.-S., Thomas G.-W., White R.-E., Ritonga D., 1985 - Transport of *Escherichia coli* trough intact and disturbed soil columns. *J. Env Qual*. 14:1, 87-91

Vansteelant J.-Y., 2004 - Evaluation des risques de contamination microbiologiques liés aux épandages de matières organiques sur prairie de montagne, Thèse Doc. Univ. Savoie, Chambéry, 171 p.

Vernozy-Rozand C., 2005 - *E. coli* 0157:H7 Monographie de microbiologie ; Tec et Doc ,135 p.

Vernozy-Rozand C. et Roze S., 2003 - Bilan des connaissances relatives aux *Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxines (STEC). Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. (A.F.S.S.A.). Maisons-Alfort. FRA. Pages 220 p.

Yang, H.-H., Vinopal R.-T., Grasso D. and Smets B.-F., 2004 - High diversity among environmental *Escherichia coli* isolates from a bovine feedlot. *Appl. Environ. Microbiol*. 70 : 1528-1536.

INSTRUCTIONS AUX AUTEURS

1/ « EGS » est une revue de l'Association Française pour l'Étude du Sol. Elle est publiée quatre fois par an.

2/ La publication est gratuite. Les articles ne devront, en règle générale, pas excéder **15 pages** imprimées (résumés, figures, tableaux, bibliographie compris). Une page pleine de la revue équivaut à environ 4 000 signes, espaces non compris. Pour certains articles, quelques pages supplémentaires pourront être acceptées.

3/ Le manuscrit doit être *saisi sous traitement de texte,* sur format 21 x 29,7 cm. Le texte sera fourni sur support électronique (fichier attaché à un courrier électronique ou CD-Rom), de préférence format Word (*DOC* ou *RTF*) en double interligne. **Les lignes doivent être numérotées de 1 à n du début à la fin du document.** Les figures en haute résolution (formats pict, eps, tif, png ou jpg en haute définition ou fichier excel) et les tableaux originaux (de préférence accompagnés du fichier excel) doivent être joints.

4/ Les textes sont *publiés en français*. Un *«résumé étendu» en anglais* (« extended summary ») précède le texte avec quelques « Key words ». Il renvoie aux principaux tableaux et figures. Un *résumé en français (30 lignes maximum),* et *quelques mots clés,*qui servent à l'indexation, accompagnent aussi le texte. Les résumés présentent clairement le problème étudié, les méthodes utilisées et les conclusions auxquelles on est arrivé. Key words et mots clés doivent être utilisables dans une interrogation de bases de données.

Une traduction en espagnol du résumé français est souhaitée. Elle peut être prise en charge par le secrétariat de rédaction. Le secrétariat de rédaction peut également proposer des améliorations en ce qui concerne la rédaction en français.

5/ *La page de garde comportera :*

a* le titre de la communication ;

b* les noms et prénoms du ou des auteurs ;

c* l'institution à laquelle il(s) appartien(nen)t et les adresses complètes ;

d* l'adresse électronique de l'auteur à qui adresser les correspondances.

L'auteur donnera un **titre courant de moins de quarante caractères**, ainsi que le **titre en anglais.**

6/ Les *figures* et les *tableaux* seront réduits par les responsables de la revue à la dimension qu'ils estimeront souhaitable.

Les *titres* des tableaux et figures seront donnés en *français* et en *anglais* par les auteurs. Dans les tableaux, la partie entière des nombres sera séparée de la partie décimale par une virgule.

Les *photographies* doivent être contrastées, une échelle donnée sur chaque document. **Les illustrations couleurs seront acceptées uniquement si elles sont indispensables.**

7/ Les **RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES** citées dans l'article sont reprises en fin de texte, par ordre alphabétique. Les noms des auteurs cités dans le texte seront écrits en caractères minuscules : (Dupont, 2009 ; Dubois et Duchemin, 2009 ; Duchamp *et al*., 2009). La bibliographie sera présentée par ordre alphabétique sur le modèle suivant :

Joseph K.T., 1977 - Clamatrops - Proceedings of the conference on classification and management of tropical soils, Kuala Lumpur, Malaysia, 15 to 20 August 1977.

Liang L., Hoffmann A. et Gu B., 2000 - Ligand-induced dissolution and release of ferrihydrite colloids. Geochim. Cosmochim. Acta, 64, 12, pp. 2027-2037.

8/ Les manuscrits doivent être envoyés par courriel à *Dominique.Arrouays@orleans.inra.fr* ou par courrier postal à Dominique Arrouays, AFES – INRA Orléans, Avenue de la Pomme de Pin, CS 40001, Ardon 45075 Orléans cedex 02, France. Les auteurs préciseront leur adresse électronique, leur numéro de téléphone et éventuellement de télécopie.

9/ Les auteurs peuvent proposer une liste restreinte d'experts susceptibles de relire le manuscrit. Ils peuvent également, en cas de concurrence ou de conflit d'intérêt, signaler des experts qu'ils ne souhaitent pas. Chaque manuscrit est envoyé à deux lecteurs qui remplissent une fiche de lecture. Cette expertise est en principe anonyme, sauf lorsqu'un expert accepte de communiquer son nom aux auteurs. Les deux fiches de lecture et commentaires éventuels sont renvoyés à l'auteur avec une décision de la rédaction : article rejeté, à re-écrire entièrement, à modifier en profondeur, à modifier légèrement, accepté.

10/ Lorsque l'article n'a pas été rejeté et que l'auteur a retourné son manuscrit corrigé en tenant compte des avis des lecteurs, le nouveau manuscrit est relu par ses lecteurs initiaux, ainsi que par les responsables de la rédaction qui peuvent proposer d'éventuelles modifications et une mise en forme améliorée des figures et tableaux.

11/ Lorsque l'auteur a donné son accord sur les modifications et effectué tous les travaux correspondants, le texte est accepté pour publication.

12/ Une épreuve d'imprimerie du texte est ultérieurement envoyée à l'auteur qui a présenté le manuscrit. *L'épreuve corrigée doit être retournée dans la semaine suivante,* avec l'accord pour payer les pages supplémentaires si c'est le cas, et avec le nombre de tirés à part demandés à titre onéreux si souhaités. Une version pdf de l'article est envoyée à l'auteur principal pour son usage personnel.

13/ Le Comité de rédaction de « E.G.S. » se réserve le droit d'adapter ou de modifier la disposition du texte original et de prendre toutes les décisions non explicitement mentionnées dans ce règlement.

14/ Les articles proposés à E.G.S. doivent être originaux ; tout manuscrit déjà publié en partie doit être explicitement signalé comme tel au début du processus de sélection. L'utilisation ultérieure des documents publiés dans « E.G.S. » par d'autres que les auteurs est soumise à une autorisation écrite des auteurs et de la revue. Une référence claire devra toujours en mentionner la source.

15/ Les textes publiés dans E.G.S. n'engagent que la responsabilité de leurs auteurs.

16/ Toute correspondance doit être adressée au rédacteur en chef :

D. Arrouays, AFES, INRA d'Orléans
2163 avenue de la Pomme de Pin,
CS 40001, Ardon, 45075 Orléans Cedex 02, France
Dominique.Arrouays@orleans.inra.fr

PUBLICATIONS ET DOCUMENTS PUBLIÉS PAR L'AFES

Revues

Science du Sol

Revue scientifique publiée de 1952 à 1993.

Elle comporte 300 à 400 pages par an. Un index est présenté tous les ans dans le quatrième numéro.

A cessé de paraître fin 1993. Certains numéros disponibles.

La Lettre de L'Association

Publiée quatre fois par an, ce journal annonce les nouvelles de l'association, les réunions nationales et internationales ; il donne des critiques d'ouvrages, de thèses, de la documentation, etc.

La Lettre est envoyée à chaque adhérent de l'association : elle accompagne l'adhésion.

Rédacteur en chef : F. Féder.

Etude et Gestion des Sols

Revue trimestrielle, francophone traitant de la connaissance et de l'usage des sols.

Rédacteur en chef : D. Arrouays.

Rédacteurs en chef Adjoints : D. Baize, D. Schwartz

Secrétariat de rédaction : F. Héliès, C. Laveuf, J.-P. Rossignol.

Le Comité éditorial est composé de trente six membres de France et de pays francophones.

Ouvrages

Le Livre Jubilaire (1984)

Point sur les acquis à cette date en matière de science du sol et de pédologie.

Fonctionnement hydrique et comportement du sol (1984)

Podzols et podzolisation

par D. Righi et A. Chauvel : ouvrage publié en coédition par l'AFES et l'INRA, avec le concours du CNRS, de l'ORSTOM, et de la région Poitou-Charentes (1987).

Micromorphologie des sols/ Soil micromorphology

par N. Fédoroff, L.M. Bresson, Marie Agnès Courty, publié par l'AFES avec le concours du CNRS, de l'INAPG, de l'INRA, du Ministère de l'Environnement et de l'ORSTOM (1985) (épuisé).

Carte mondiale des sols et sa légende (1984)

Présentée sous forme numérique.

Le Référentiel Pédologique

par D. Baize et M.-C. Girard, (Coord.) AFES, Association Française pour l'Etude du Sol (FRA), Editions Quae, Versailles (FRA) ; 2009. 405 p. - Collection Savoir-Faire.

Synthèse nationale des analyses de terre : Période 1990-1994

par C. Walter, C. Schvartz, B. Claudot, P.-Aurousseau et T. Bouedo, avec le concours du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche.

Actes du XVI^{e} Congrès Mondial de Sciences du Sol, Montpellier - Août 1998