



HAL
open science

Application des techniques de microrespirométrie pour la caractérisation écotoxique microbienne (traits physiologiques et PICT) de sols contaminés par des métaux lourds

Annette A. Berard, Christophe Mazzia, Valerie V. Sappin-Didier, Yvan Capowiez

► To cite this version:

Annette A. Berard, Christophe Mazzia, Valerie V. Sappin-Didier, Yvan Capowiez. Application des techniques de microrespirométrie pour la caractérisation écotoxique microbienne (traits physiologiques et PICT) de sols contaminés par des métaux lourds. 4ème Séminaire d'Ecotoxicologie, Nov 2011, Saint-Lager, France. hal-02745844

HAL Id: hal-02745844

<https://hal.inrae.fr/hal-02745844>

Submitted on 3 Jun 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.

Application des techniques de microrespirométrie pour la caractérisation écotoxique microbienne (traits physiologiques et PICT) de sols contaminés par des métaux lourds

Annette BÉRARD¹, Christophe MAZZIA², Valérie SAPPIN-DIDIER³,
Yvan CAPOWIEZ⁴

¹UMR INRA/UAPV 1114 EMMAH, Site Agroparc, F-84914 Avignon Cédex 9

²UMR 406 INRA/UAPV, Site Agroparc, 84914 Avignon Cédex 9

³UMR 1220 TCEM, BP 81, F-33883 Villenave d'Ornon cedex

⁴UR 1115 INRA PSH, Site Agroparc, F-84914 Avignon Cédex 9

annette.berard@paca.inra.fr

Introduction

Les communautés microbiennes (com. mic.) participent directement à la qualité biologique des sols en agissant sur leur fertilité chimique, leurs conditions sanitaires microbiennes et chimiques, ainsi que sur leur structure et stabilité, et présentent une très grande diversité spécifique et fonctionnelle (Pankhurst 1997). Ainsi, ce sont des indicateurs édaphiques particulièrement pertinents (Boivin et al. 2002). Cependant, peu d'outils existent qui permettent d'utiliser ces communautés comme indicateurs d'écotoxicité dans les sols. La méthode PICT (Pollution-Induced Community Tolerance) est basée sur le concept qu'une communauté biologique exposée à un toxique, sera sélectionnée et s'adaptera à celui-ci, acquerrant ainsi une tolérance accrue vis-à-vis de ce toxique (si on la compare à une « même » communauté non exposée). Cet outil d'écotoxicité associant structure et fonction à l'échelle de la communauté, a été largement utilisé dans les écosystèmes aquatiques (e.g. Bérard et al. 2002, Tlili et Montuelle 2011); il l'a été moins dans les écosystèmes édaphiques (Boivin et al. 2002), en partie pour des raisons méthodologiques. Les mesures de respirométrie des sols ont récemment été utilisées pour évaluer sous forme de bioessais d'activité catabolique, la tolérance à un toxique (Witter et al. 2000). Mais ces mesures impliquant des analyses en chromatographie gazeuse, sont très coûteuses en temps et difficilement applicables à de nombreux échantillons. Campbell et al. (2003) ont mis au point une technique de microrespirométrie (MicroResp™) permettant de travailler simultanément sur de nombreux échantillons de sols, mais cette technique n'a encore, à notre connaissance, jamais été utilisée pour mettre en évidence le PICT dans un sol.

Notre objectif est d'appliquer la technique MicroResp™ pour aborder les com. mic. comme indicatrices d'écotoxicité. Nous comparerons la respiration basale, la biomasse, l'état physiologique, la diversité catabolique et la tolérance à un contaminant des com. mic. de différents sols contaminés par des métaux lourds dans un contexte d'épandage de boues d'épuration.

Matériel et méthodes

En 1976, une étude à long terme a été réalisée sur des placettes agricoles de l'Inra de Bordeaux avec l'épandage de boues provenant d'une station d'épuration traitant les effluents d'une usine de production de batteries. Ces boues contenaient des métaux en concentrations élevées (Cd et Ni particulièrement). Les épandages de boues furent arrêtés en 1980. 11 placettes de sols ont été prélevées en 2011 sur une profondeur de 0-10 cm. Ces placettes ont été choisies en fonction de leurs degrés de contamination en métaux : notons que 3 placettes initialement témoins (sans apport direct de boue) ont été contaminées par les placettes adjacentes et contiennent de 7 à 10 ppm de Cd environ dans leurs sols, 2 sols supplémentaires ont été prélevés dans une prairie à proximité du site expérimental et sont considérés comme référence (Tab. 1). Ces échantillons de sol ont été tamisés à 2 mm de

maille, et placés à une humidité correspondant à environ 50% de la WHC (11 % d'humidité massique) pour une préincubation de 6 jours.

Table 1. Concentrations en Cd et paramètres microbiens mesurés dans les sol (CE50 : RegTox).

| | Sol | Cd (ppm) | Respiration Basale ($\mu\text{gC-CO}_2/\text{g sol sec/h}$) | SIR-Glucose Biomasse ($\mu\text{g C/g sol}$) | $q\text{CO}_2$ ($\text{mgC-CO}_2/\text{gC/h}$) | CE50 Cd ²⁺ ($\mu\text{g/g sol}$) (intervalle de confiance 5%) |
|----------------|---------|----------|---|--|--|--|
| Référénc e | REF1 | 0,0 | 0,13 | 32,29 | 3,99 | 1571 (1236-1976) |
| | | | | | | 1681 (1263-2213) |
| | REF2 | 0,3 | 0,14 | 28,48 | 4,81 | 3184 (2200-5386) |
| Témoïn initial | C25 | 7,0 | 0,12 | 15,75 | 7,35 | 1339 (1048-1778) |
| | C24 | 11,1 | 0,11 | 21,52 | 5,12 | 5525 (3720-9265) |
| | C31 | 11,5 | 0,09 | 12,16 | 7,47 | 6088 (3969-12550) |
| SEW 10 | B10-26 | 12,1 | 0,10 | 13,59 | 7,60 | 4439 (2844-9016) |
| | B10-22 | 19,2 | 0,09 | 13,24 | 7,06 | 5690 (4003-9390) |
| | B10-29 | 31,9 | 0,11 | 18,00 | 6,01 | 4324 (2890-7240) |
| SEW 100 | B100-23 | 81,7 | 0,09 | 10,64 | 8,91 | 11391 (3963-244841) |
| | B100-28 | 86,3 | 0,11 | 12,43 | 8,50 | 10961 (4374-94171) |
| | B100-30 | 107,2 | 0,10 | 11,53 | 9,10 | |

Deux types de mesures ont donc été réalisées à l'aide de la technique MicroRespTM : (i) des mesures caractérisant les com. mic. d'un point de vue biomasse (SIR-Glucose, Anderson et Domsch, 1985), respiration basale (RB), quotient métabolique ($q\text{CO}_2$) indicateur physiologique (Anderson et Domsch, 1985) et profil catabolique (CLPP) indicateur de diversité fonctionnelle. (ii) des bioessais, permettant d'évaluer la tolérance acquise de ces communautés autochtones vis-à-vis du Cd présent en grande quantités dans ces différents sols (PICT). La technique MicroRespTM permet de miniaturiser les mesures de respiration induites par différents substrats carbonés (SIR sur 11 substrats, 30 mgC/g eau de sol) et mesure de respiration basale (avec eau) en distribuant de manière volumétrique des échantillons de sol dans une microplaque (96 puits) à puits profonds, celle-ci ayant déjà reçu les substrats sous forme dissoute dans l'eau. L'incubation de 6 heures se fait après avoir placé un joint en silicone (individualisant les puits) et une microplaque ayant dans chacun de ses 96 puits, un indicateur coloré sensible au pH (rouge de crésol) pris dans un gel d'agarose. La lecture de cette plaque supérieure de détection (spectrophotomètre de 570 nm) permet d'estimer la concentration en CO_2 dans le système (après calibration avec GC) et donc d'évaluer la production de CO_2 par le sol. Pour appliquer la méthode PICT, nous avons introduit dans les puits profonds de la microplaque inférieure, 25 μl de 7 concentrations croissantes en Cd (52 - 3372 $\mu\text{g Cd}^{2+}/\text{g sol}$). Nous avons ensuite distribué le sol selon le système MicroRespTM (3 réplicats par concentration) et préincubé le sol pendant 15 heures (obscurité, 25°C), ceci pour permettre l'évacuation de CO_2 éventuellement lié à des dégagements rapides d'origine géochimique et de favoriser la biodisponibilité du métal

pour les microorganismes (Tlili et al. 2011). Les puits reçoivent ensuite individuellement 25 µl de Glucose et le système avec joint et plaque de détection est installé pour une incubation de 6 heures. Les mesures de densité optique de la plaque de détection sont réalisées en début et fin d'incubation.

Résultats et discussions

Nos résultats montrent que les sols les plus contaminés se différencient d'un point de vue profils cataboliques (Fig.1) des autres sols et présentent les biomasses et respirations les plus faibles et les qCO₂ et CE50_{Cd} les plus élevés (Tab. 1, Kruskal-Wallis tests; p≤0.05), indiquant un effet important des contaminations sur les com. mic., leur tolérance et leurs traits physiologiques.

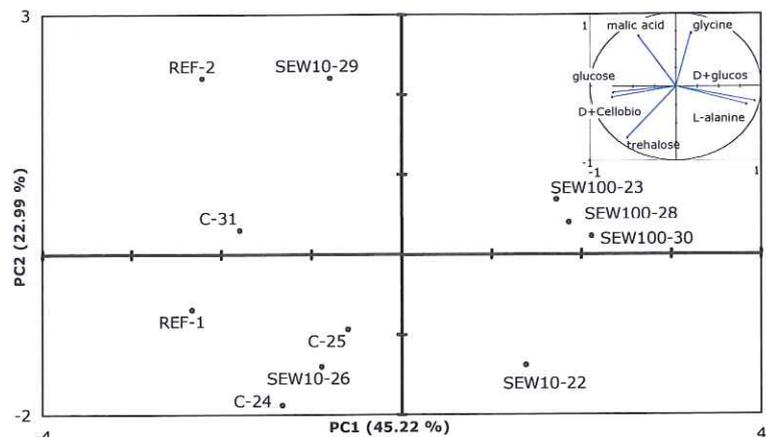


Figure 1. ACP réalisée sur les CLPP des différents sols étudiés (moyennes de 4 réplicats)

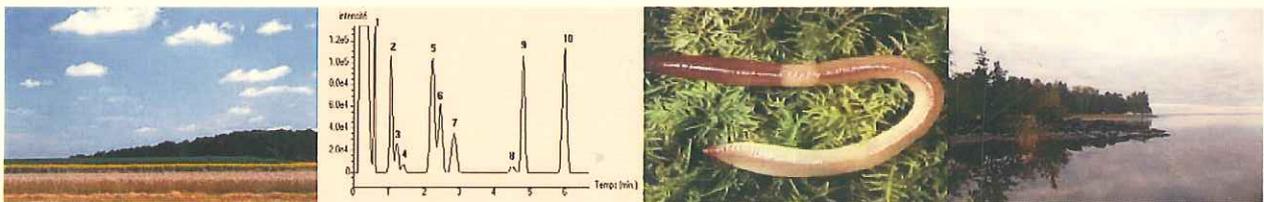
exemple d'utilisation du MicroRespTM pour appliquer le PICT aux communautés microbiennes des sols.

Mots-clés : communautés microbiennes, PICT, MicroRespTM, sol, métaux lourds

Références

- Anderson J.P.E., Domsch K.H. 1985. Maintenance carbon requirements of actively-metabolizing microbial populations under in situ conditions. *Soil Biol. Biochem.* 17, 197-203.
- Bérard A., Dorigo U., Humbert J.F., Leboulanger C., Seguin F. 2002. Application of the pollution-induced community tolerance (PICT) method to algal communities: its values as a diagnostic tool for ecotoxicological risk assessment in the aquatic environment. *Annales de Limnologie* 38: 247-261.
- Boivin M. E. Y., Breure A. M., Posthuma L., Rutgers M. 2002. Determination of field effects of contaminants - Significance of pollution-induced community tolerance. *Human and Ecol. Risk Assess.* 8:1035-1055.
- Campbell C.D., Chapman S.J., Cameron C.M., Davidson M.S., Potts J.M. 2003. A rapid microtiter plate method to measure carbon dioxide evolved from carbon substrate amendments so as to determine the physiological profiles of soil microbial communities by using whole soil. *Appl. Environm. Microbiol.* 69, 3593-3599.
- Pankhurst C.E. 1997. Biodiversity of soil organisms as an indicator of soil health, in: Pankhurst C.E., Doube B.M., Gupta V.V.S.R. (Eds.), *Biological Indicators of Soil Health*. CAB International, pp. 297-325.
- Tlili A, Marechal M, Montuelle B, Volat B, Dorigo U, Bérard A (2011) Use of the MicroRespTM method to assess pollution-induced community tolerance to metals for lotic biofilms. *Environ Pollut* 159:18-24.
- Tlili A, Montuelle B. 2011. Microbial pollution-induced community tolerance. In: Amiart-Triquet C, Rainbow PS, Romeó M (eds) *Tolerance to environmental contaminants*. CRCpress, Boca Raton, pp 65-108.
- Witter E., Gong P., Baath E., Marstorp H. 2000. A study of the structure and metal tolerance of the soil microbial community six years after cessation of sewage sludge applications. *Environ. Toxicol. Chem.* 19: 1983-1991.

4^{ème} Séminaire d'Ecotoxicologie de l'INRA



Saint Lager, 7-9 novembre 2011

Réseau des Ecotoxicologues de l'INRA
Réseau Ecodynamique des Micropolluants

ALIMENTATION
AGRICULTURE
ENVIRONNEMENT

INRA