

Effet biostimulant d'une culture de maïs sur la capacité d'un sol à dégrader l'atrazine

Séverine Piutti, Fabrice Laurent, Sandrine Rousseaux, Stéphanie Hallet,
Bernard Lagacherie, Guy Soulas

► **To cite this version:**

Séverine Piutti, Fabrice Laurent, Sandrine Rousseaux, Stéphanie Hallet, Bernard Lagacherie, et al.. Effet biostimulant d'une culture de maïs sur la capacité d'un sol à dégrader l'atrazine. 31. Congrès du Groupe Français des Pesticides, May 2001, Lyon, France. hal-02762403

HAL Id: hal-02762403

<https://hal.inrae.fr/hal-02762403>

Submitted on 4 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.

Effet biostimulant d'une culture de maïs sur la capacité d'un sol à dégrader l'atrazine

PIUTTI S., MARTIN-LAURENT F., ROUSSEAU S., HALLET S., LAGACHERIE B. ET SOULAS G.

INRA-CMSE
Laboratoire de Microbiologie des Sols
17, rue de Sully
BP 86510
21065 Dijon Cedex

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

Introduction générale

Face à la dispersion des substances actives dans l'environnement, une directive européenne concernant la qualité des eaux destinées à la consommation fixe à 0,1µg/l la concentration maximale admissible pour les résidus. En respect de cette norme les pouvoirs publics ont mis en place au niveau national des suivis de qualité des eaux superficielles et profondes. Parmi les contaminants les plus fréquemment retrouvés dans les analyses d'eau (ressources superficielles ou souterraines) des points de prélèvements du réseau de surveillance français, l'atrazine et ses métabolites de dégradation constituent un réel problème. En ce qui concerne la persistance de l'atrazine, le temps de demi-vie de ce produit au champ est très variable et s'étend d'un mois (Seiler *et al.*, 1992) à un an. Des applications répétées d'un même pesticide sur un sol peuvent conduire au développement de populations microbiennes très actives capables de le dégrader

totalemment et de façon très rapide. Ce phénomène est connu sous le nom de biodégradation accélérée. Des études ont ainsi montré qu'après des applications répétées d'atrazine certains sols présentent une capacité accrue de dégradation de l'atrazine (Barriuso et Houot, 1996 ; Pussemier *et al.*, 1997).

Face aux problèmes de contamination des sols et des ressources en eau par les produits phytosanitaires, différentes techniques de bioremediation sont envisageables. La contamination de l'environnement par les produits phytosanitaires résulte majoritairement des interactions sol-pesticides avant la dégradation. La présence d'une couverture végétale comme les bandes enherbées peut donc limiter l'érosion et le transport des produits vers les ressources en eau (Patty *et al.*, 1997). D'autre part, la présence d'une plante peut accélérer la dégradation des polluants organiques par stimulation de l'activité microbienne de façon à limiter les transferts. Cette stimulation ou rhizodégradation est surtout utilisée dans le cas des pollutions par des composés organiques type pesticides, PCB ou HAP (Hsu et Bartha, 1979 ; Reddy et Sethunathan, 1983, Shimp *et al.*, 1993, Anderson et Coats, 1995; Anderson *et al.*, 1995; Buyanovsky *et al.*, 1995 ; Shann, 1995; Boyle et Shann, 1995, 1998; Haby et Crowley , 1996).

Dans ce contexte, l'objectif de ce travail consiste à étudier l'effet bio-stimulant d'une culture de maïs, sur la capacité initiale d'un sol à dégrader l'atrazine. Après 8 semaines de culture en serre et le traitement des sols avec de l'atrazine, nous avons testé au laboratoire la capacité de dégradation de ce produit sur les sols (témoins et traités) restés 8 semaines en serre. La détermination de la biomasse microbienne a été effectuée sur les différents échantillons de sol de façon à tenter d'expliquer les différences de minéralisation par cet indice global. Enfin pour essayer de mieux comprendre la mise en place de la biodégradation accélérée, nous avons extrait l'ADN des sols pour tenter de mettre en évidence des différences génétiques (modification de la structure des communautés bactériennes et présence des gènes de dégradation de l'atrazine) au sein des échantillons de sols nus ou cultivés traités ou non avec de l'atrazine.

Matériels et méthodes

1. Sol

Le sol utilisé pour cette étude a été collecté dans une parcelle du domaine expérimental de la Bouzule (ENSAIA Nancy) sur une épaisseur de 20 cm. Les caractéristiques du sol les suivantes : 51,3% de limon, 33,3% d'argile, 15,4% de sable, 26,4% de matière organique, pH 5,8. La parcelle n'a pas reçu d'atrazine depuis 1991. Le sol, tamisé à 5 mm, est placé dans des pots en PVC de 2,5 litres sur un filet de billes d'argile expansée.

2. Dispositif expérimental

Quatre traitements ont été choisis pour étudier l'effet du maïs sur la dégradation de l'atrazine dans le sol : sol non cultivé (SN), sol non cultivé traité avec de l'atrazine en serre (SNT), sol cultivé en maïs non traité (M) et sol cultivé en maïs traité avec de l'atrazine en serre (MT). Pour chaque traitement, 5 répétitions ont été réalisées. Les graines de maïs ont été stérilisées avec de l'hypochlorite de calcium (33 mg/l) pendant 5 minutes puis sont rincées à l'eau permutée stérile avant d'être semées (4 graines par pot). Le traitement avec l'atrazine non formulée s'effectue directement après le semis à raison de 1,5 mg/kg de sol (équivalent poids sec). L'essai est conduit selon un dispositif en randomisation totale et les pots subissent une rotation journalière. Les conditions de la culture en serre sont les suivantes, photopériode de 11 heures, température de 19°C de jour et 15°C de nuit, d'hygrométrie de 60%. Les pots «sont arrosés» au poids tous les 2 jours avec de l'eau permutée (sol nu) ou de la solution nutritive dans le cas des sols cultivés de façon à maintenir l'humidité du sol à 80% de la capacité au champ. Après 8 semaines de culture, tous les pots sont récoltés et les échantillons de sol sont récupérés pour réaliser des tests en laboratoire.

3. Etudes microbiennes réalisées sur les sols au laboratoire

3.1 Tests de minéralisation d'atrazine marquée au carbone 14 dans le sol

La minéralisation de l'atrazine au laboratoire a été étudiée sur les sols issus de l'essai en serre (sol non cultivé et sol cultivé en maïs non traités, sol non cultivé et sol cultivé en maïs traités à l'atrazine en serre). Les tests s'effectuent en enceinte radiorespirométrique étanche. Il s'agit de bocaux dans lequel on place, un pot en verre contenant le sol traité (10 g équivalent poids sec), une fiole à scintillation liquide contenant 5 ml de soude 0,2 M qui assure le piégeage du $^{14}\text{CO}_2$ dégagé lors de l'incubation et une fiole à scintillation liquide contenant 10 ml d'eau permutée afin d'assurer la saturation en eau de l'atmosphère du bocal. Dix grammes de sol équivalent poids sec sont placés dans un pot en verre. L'humidité est ajustée à 100% de la capacité de rétention du sol en tenant compte des 0,5 ml de solution aqueuse contenant le produit radioactif. Le traitement apporte 1,5mg/kg de sol du produit et environ 1,7 kBq par échantillon. L'incubation en bocaux se fait dans une salle climatisée à 20°C. Un échantillon de sol par pot du dispositif en serre est testé. Les pièges de soude sont prélevés et remplacés régulièrement. Le $^{14}\text{CO}_2$ piégé est dosé à l'aide d'un compteur à scintillation liquide (Packard 1900TR-Tri-carb) après ajout de liquide scintillant (ACS II, Amersham).

Parallèlement à cette cinétique de dégradation d'atrazine marquée, une cinétique avec de l'atrazine froide a été effectuée et aux mêmes temps de prélèvement des

pièges, des aliquotes de 250 mg de sol ont été prélevés et congelés à -80°C dans le but de réaliser des études moléculaires.

3.2 Mesure de la biomasse microbienne des échantillons

Afin d'évaluer le carbone présent dans les micro-organismes des différents échantillons de sol, nous avons utilisé la technique de fumigation-extraction (Vance *et al.*, 1987). Cette méthode permet de déterminer le carbone organique extractible du sol suite à un traitement biocidal. Le traitement utilisé est une fumigation du sol avec des vapeurs de chloroforme pendant 16 heures sur des échantillons de 10 g équivalent poids sec. Parallèlement à cela, des échantillons témoins non fumigés sont pesés. L'extraction du carbone organique est réalisée sous agitation pendant 45 minutes à l'aide de 50 ml d'une solution de K_2SO_4 25mM sur les échantillons fumigés et sur les témoins. Ensuite les échantillons après décantation ont été filtrés sur papier Whatman® en fibres de verre. Enfin les échantillons ont été conservés à -20°C après ajout de 3 à 4 gouttes d'acide orthophosphorique pur (stabilisation par acidification). Le carbone extractible a été mesuré par une technique initialement suggérée par Chaussod *et al.* (1988) puis reprise par Wu *et al.* (1990). Il s'agit d'un dosage du CO_2 issu de l'oxydation du carbone sous UV en présence de persulfate de potassium (Dohrman DC80). Les résultats sont donnés en milligrammes de carbone par litre. Les résultats obtenus à partir des échantillons non fumigés (carbone organique non microbien) sont retranchés de ceux des échantillons fumigés (carbone organique non microbien + carbone organique microbien). Les valeurs obtenues sont ensuite divisées par le coefficient d'extractibilité du sol ou K_{EC} . La valeur finale du résultat est exprimée en mg de carbone/kg de sol.

4. Analyses moléculaires réalisées sur les sols au laboratoire

Ces études ont été réalisées pour tenter d'expliquer les différences de minéralisation de l'atrazine dans les échantillons de sol.

4.1 Extraction d'ADN du sol

Le sol (250 mg) congelé après prélèvement aux différents temps de la cinétique « froide » de dégradation de l'atrazine est soumis à une extraction afin de purifier les acides nucléiques (ADN). Le protocole d'extraction mis au point au laboratoire (Martin-Laurent *et al.*, 2001a), consiste à mettre en présence 0,25g de sol et des billes (106 μm et 1mm) dans un tampon d'extraction et à extraire l'ADN par lyse mécanique et centrifugations successives en présence de différents tampons. Après précipitation à l'isopropanol et lavage à l'éthanol 70%, l'ADN est purifié sur colonne de Sépharose, récupéré et congelé jusqu'à son utilisation. L'ADN extrait

de chaque échantillon de sol est dosé à 260 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Chaque ADN est dilué de façon à obtenir une concentration finale de 10 ng/μl.

4.2 Analyse de la région intergénique de l'ADNr 16S (RISA)

Il s'agit d'amplifier la région intergénique de l'opéron ribosomique comprise entre les deux gènes codant pour l'ARNr 16S et 23S. Deux amorces universelles (72F et 38R) ont été utilisées car elles se situent dans les zones conservées de ces deux gènes. Contrairement à l'ADNr 16S, la région intergénique 16S-23S n'est pas soumise à une pression de sélection. Elle présente par conséquent un polymorphisme de longueur qui permet une analyse de la diversité au niveau de l'espèce.

La réaction est conduite dans un volume de 25μl contenant 2,5μl de tampon Taq polymérase 10X, 200μM de chaque dNTP, 1,5 mM de MgCl₂, 1μM de chaque amorce, 1,25 U de Taq polymérase et 25ng d'ADN. La PCR a été réalisée dans un thermocycleur programmable constitué d'un bloc chauffant à effet Pelletier (PTC 200, MJ Research). Le nombre de cycles effectués est ici de 35. Après amplification les produits sont séparés sur un gel vertical à 6% d'acrylamide. La migration s'effectue pendant 17 heures à 8 mA. Les gels sont révélés après coloration à l'aide d'un intercalant (Sybr green) pendant 35 minutes et ils sont lus au phospho-imager à l'aide d'un détecteur à fluorescence bleue (λ_{exc} 450 nm, λ_{em} 520 nm).

4.3 Quantification du gène *atzC* par PCR compétitive dans les échantillons de sol

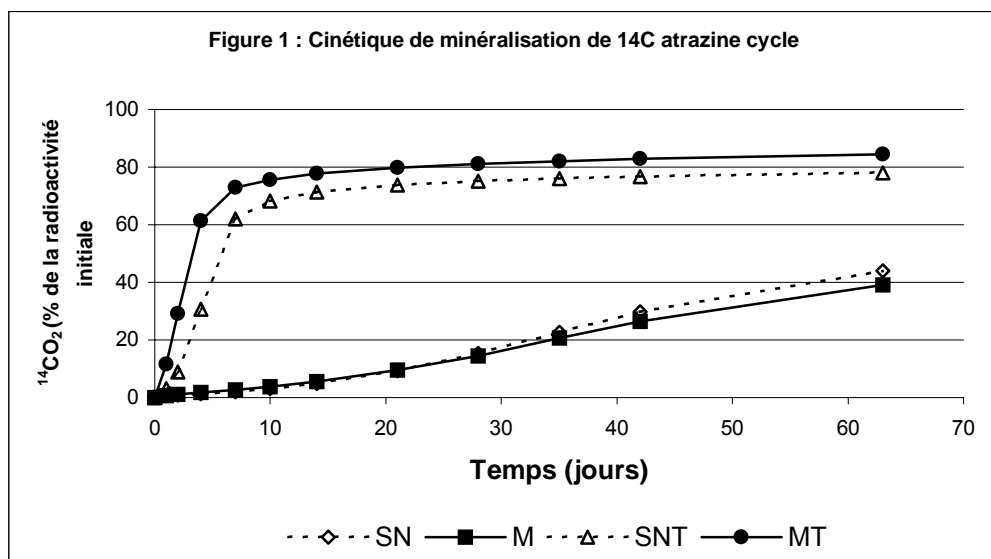
Sur chaque ADN extrait des échantillons de sol, nous avons tenté d'amplifier le gène *atzC* avec les amorces décrites par de Souza *et al.* (1998). Après une amplification unique, les produits correspondant au gène *atzC* n'ont pas pu être mis en évidence. Par conséquent, une PCR gigogne constituée de deux amplifications successives a été mise au point (Martin-Laurent *et al.*, 2001b) afin d'augmenter la sensibilité de la réaction.

La réaction de l'amplification primaire est réalisée avec les amorces NatzC et CR. L'amorce NatzC a été dessinée dans la séquence du gène *atzC* en amont de l'amorce CR décrite par de Souza *et al.* (1998). La PCR primaire génère un produit de 734 pb. Pratiquement, à l'issue de la PCR primaire, les amplifiats sont dilués au 1000^{ème} et sont repris comme ADN cible pour la PCR secondaire. En plus de cet ADN cible, on ajoute dans chaque tube de réaction une quantité identique d'ADN étalon interne. (constitué du fragment du gène *atzC* amplifié et délété de 70 pb). Une gamme étalon a été réalisée à partir d'une quantité d'ADN connue (ADN de la souche ADP isolée par Mandelbaum *et al.* 1995) et de l'étalon interne afin de pouvoir quantifier l'ADN cible. Après ces 2 amplifications successives, les produits d'amplification sont séparés sur un gel natif à 1,8 % d'agarose. Après migration à

80V, le gel est coloré 15 minutes dans une solution de bromure d'éthidium (2µg/ml), brièvement rincé à l'eau et révélé sous UV.

Résultats

1. Minéralisation de l'atrazine (figure 1)



Deux types de courbes se distinguent. Le premier type concerne les sols traités une première fois en serre avec de l'atrazine (SNT et MT) tandis que le deuxième type regroupe les sols non traités en serre (SN et M). Dans le premier cas, les courbes présentent les caractéristiques d'une adaptation à la dégradation de l'atrazine c'est à dire une phase de latence inexistante, une durée de demi-vie très réduite (entre 3 et 5 jours) et enfin un plateau atteignant plus de 80%. Les courbes de minéralisation relatives aux deux autres sols non traités en serre présentent des caractéristiques de sols en cours d'adaptation présentant une phase de latence d'environ 10 jours.

Afin de comparer l'effet des facteurs présence/absence de maïs et traitement ou non à l'atrazine sur la minéralisation de l'atrazine, nous avons choisi d'ajuster un modèle mathématique sur les courbes afin de déterminer les paramètres du modèle pour chaque échantillon de sol. Le modèle retenu est le modèle cinétique de Gompertz déjà utilisé pour son adéquation aux cinétiques de minéralisation (Soulas, 1993). Un terme linéaire a été ajouté à l'équation du modèle afin de tenir

compte du turnover du 14C-carbone au sein de la biomasse. L'équation de ce modèle est alors :

$$CO_2 = p \cdot \exp[-\exp(-k(t-t_i))] + c \cdot t$$

L'interprétation des paramètres est la suivante :

- p représente le pourcentage de minéralisation maximal atteint au plateau
- k représente la constante de vitesse de minéralisation
- t représente le temps
- t_i représente l'abscisse du point d'inflexion
- c représente le pourcentage de minéralisation du carbone microbien par unité de temps.

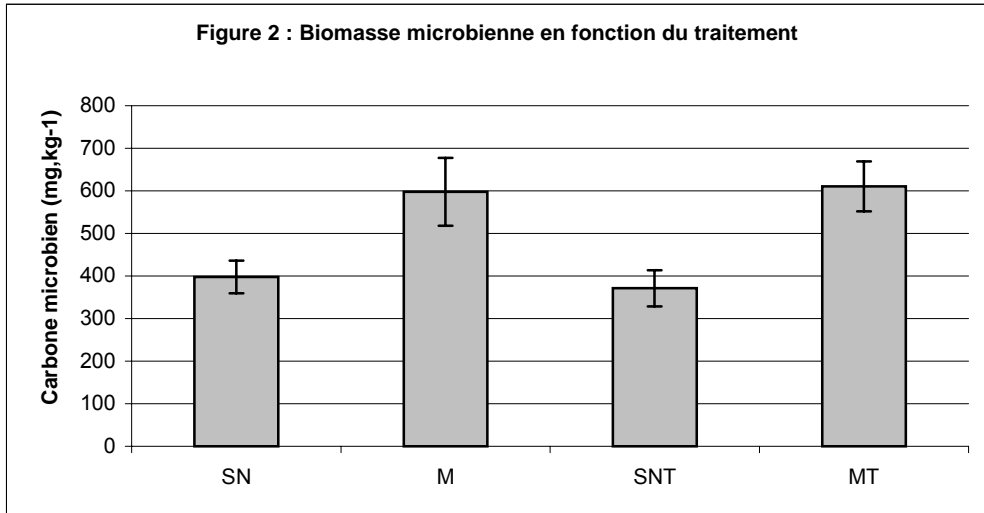
L'ajustement du modèle a été réalisé sur le logiciel Sigmaplot c de la société SPSS Inc. Les paramètres obtenus pour les cinétiques de minéralisation de l'atrazine marquée sur le cycle sont les suivants :

	SN	M	SNT	MT
p	43,9 a	48,7 a	71,1 b	75,4 b
k	0,056 a	0,042 a	0,5 b	0,71 c
t_i	32,83 a	33,31 a	3,58 b	1,92 c
c	0,14 ND	0,04 ND	0,12 ND	0,167 ND

Une analyse de variance a été réalisée sur les paramètres obtenus à partir de la modélisation de chaque courbe de minéralisation obtenue pour chaque échantillon de sol issu d'un cycle de culture en serre. Cette analyse met en évidence un effet très significatif du traitement atrazine en serre sur les paramètres cinétiques, p, k et t_i . De plus, pour les paramètres k et t_i , l'effet plante en sols traités est significatif. Ainsi par comparaison au sol nu, la vitesse de minéralisation est plus importante et la valeur de l'abscisse du point d'inflexion est réduite.

2. Mesure de la biomasse microbienne (figure 2)

La détermination du carbone microbien a été effectuée sur chaque échantillon de sol dès sa sortie de serre. La biomasse microbienne est significativement supérieure ($p < 0,05$) en sol cultivé qu'en sol nu. Par contre l'application d'atrazine en serre n'induit aucun changement significatif par comparaison aux valeurs de biomasse déterminées dans les sols non traités.



3. Etudes moléculaires sur les différents échantillons de sol

3.1 Etude des communautés microbiennes du sol

Les profils RISA des sols traités à l'atrazine une première fois en serre et retraités lors de la cinétique de dégradation au laboratoire (figure 3) laissent apparaître une différence entre les sols cultivés en maïs (pistes MT) et les sols nus (pistes SNT). Comme précédemment, les bandes majoritaires en sols nus (SNT) présentent une intensité plus faible dans les sols cultivés (MT). Il semblerait donc que la culture du maïs modifie la structure des communautés présentes dans le sol, essentiellement en modifiant l'équilibre des phylotypes présents initialement.

Figure 3

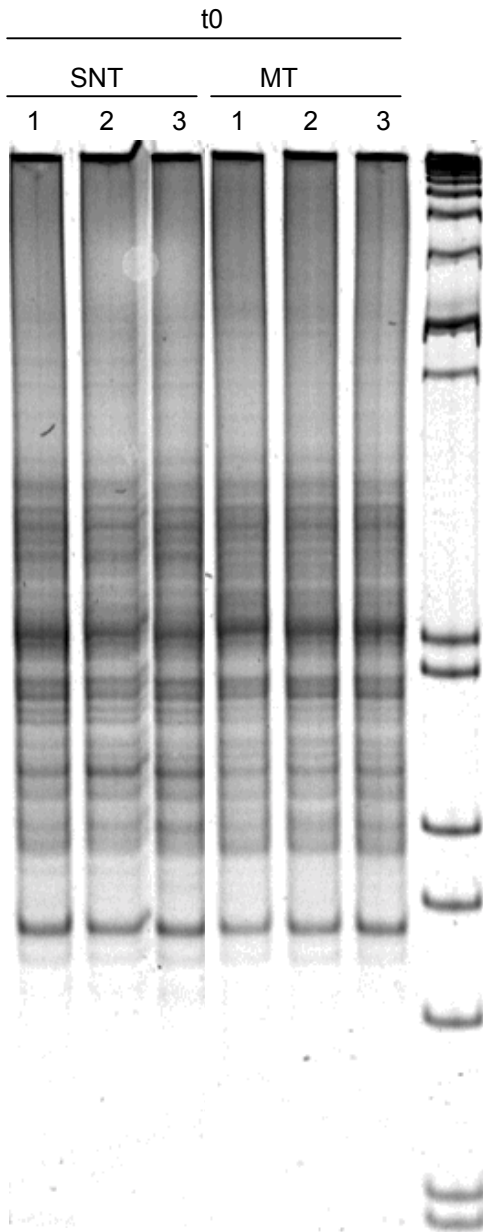
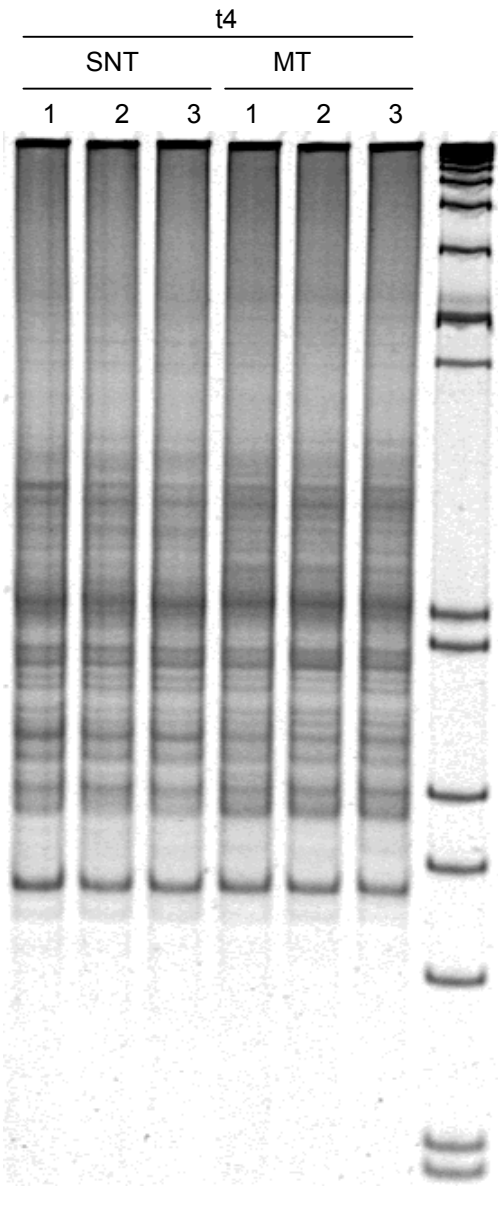


Figure 4

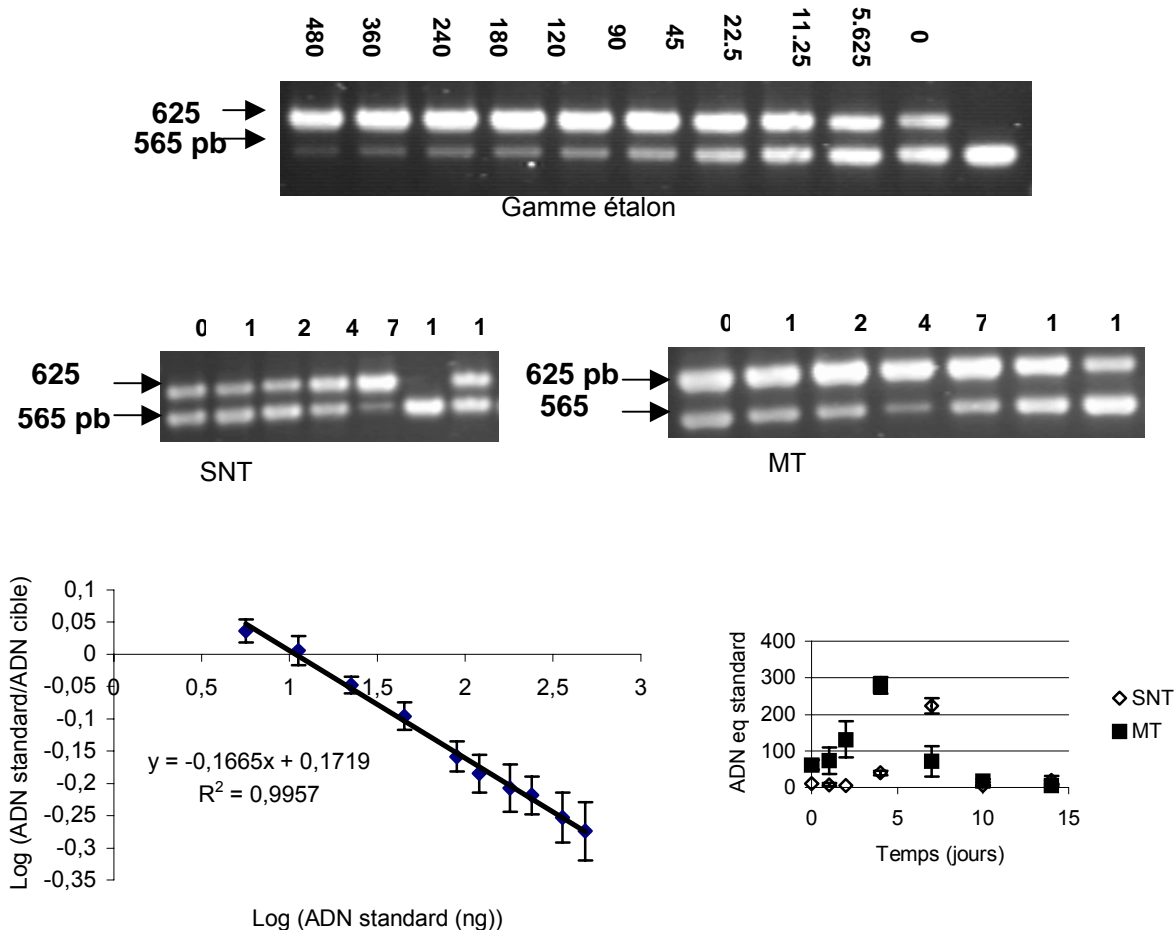


Si on compare les profils obtenus sur les échantillons prélevés aux différents temps de la cinétique de dégradation de l'atrazine au laboratoire, on retrouve à nouveau le même profil qu'à t0 (figure 4). Le traitement avec l'atrazine au laboratoire n'induit pas l'apparition de bandes nouvelles sur le profil.

3.2 Essai de quantification du gène *atzC* dans le sol

Des essais d'amplification des gènes de dégradation de l'atrazine sur les ADN extraits des différents sols ont été effectués. Les premières conclusions de cet essai montrent qu'après une amplification directe avec les amorces du gène *atzC*, aucun produit d'amplification n'est détecté. De ce fait l'utilisation de la PCR gigogne a été envisagée pour mettre en évidence ce gène dans les échantillons de sol. Pour permettre la quantification du gène dans les différents échantillons de sol, une gamme étalon a été établie avec différentes quantités d'ADN (de 5.6 à 480 ng/μl) de *Pseudomonas ADP*, souche référence possédant une copie du gène *atzC*. Les résultats de la PCR gigogne compétitive sont présentés sur la figure 5. Les résultats de cette expérience sont représentés sur la figure ci-dessous.

Figure 5



Les résultats montrent que la quantité de gène *atzC* détecté varie au cours du temps et en fonction du type d'échantillon (SN ou M). Plus précisément, au début de la cinétique (temps 0), le gène *atzC* est déjà cinq fois plus présent dans les échantillons de sol cultivés et traités en serre que dans les sols nus traités. De plus, la quantité détectée du gène *atzC* augmente de manière transitoire. En effet, pour les sols cultivés traités, elle augmente au cours de la cinétique pour atteindre un maximum à 4 jours et diminue en fin de cinétique. Pour les sols nus traités, après une phase de latence de t_0 à t_2 , la quantité de gène *atzC* détectée augmente jusqu'à t_7 puis diminue jusqu'à t_{14} .

Discussion et conclusion

La culture d'une même plante de façon successive dans un sol est à l'origine d'une augmentation du carbone et de la biomasse microbienne dans ce dernier. En effet, la présence de la plante dans le sol produit un effet rhizosphère qui se traduit par une augmentation du nombre et de l'activité des micro-organismes (Haller et Stolp, 1985). L'expérimentation que nous avons menée confirme ce phénomène qui a pu être observé à la fin culture de maïs. En effet, le carbone microbien a significativement été augmenté dans les sols cultivés par comparaison aux sols nus.

En ce qui concerne la mise en place de l'adaptation du sol à dégrader l'atrazine, il semble que le facteur essentiel soit l'application du produit. En effet, une application en serre suivie d'un retraitement au laboratoire 8 semaines après sur un sol qui n'a pas reçu d'atrazine depuis une dizaine d'années suffit à mettre en place la biodégradation accélérée de l'atrazine. De plus, la dégradation démarre significativement plus vite dans les sols cultivés avec du maïs que dans les sols nus. Cette différence dans les vitesses initiales de minéralisation pourrait être due à un effet bénéfique de la plante durant la culture sur l'installation puis le maintien des populations capables de dégrader l'atrazine dans les sols. Alvey et Crowley (1996) avaient avancé la même hypothèse pour expliquer la survie 30 fois plus importante d'un consortium dégradant l'atrazine en sol cultivé en maïs qu'en sol nu sachant que la plante n'affecte pas directement la minéralisation du produit. Pour les sols n'ayant reçu aucun traitement avec de l'atrazine en serre, la capacité de minéralisation au laboratoire est significativement plus faible que dans les sols traités en serre. On retrouve donc l'effet incontournable de l'atrazine sur la mise en place de sa dégradation accélérée. Si le traitement avec l'atrazine est déterminant pour la mise en place de l'adaptation du sol utilisé, il ne produit pas d'effet significatif sur la biomasse microbienne. Les traitements répétés à l'atrazine semblent sélectionner spécifiquement une partie de la microflore du sol particulièrement capable de dégrader ce produit. Les résultats de l'étude moléculaire montrent que la structure des communautés bactériennes est modifiée dans les sols cultivés par rapport aux sols nus. En effet, il a été notamment observé que l'intensité des phylotypes majoritaires dans le sol nu était diminuée dans le sol cultivé. La culture du maïs induit certainement la mise en place de conditions écologiques différentes dans le sol par rapport à un sol nu. Notamment,

la plante peut exercer une sélection des bactéries les mieux adaptées à la rhizosphère. De plus, l'atrazine ne semble pas induire l'apparition de bandes spécifiques au niveau des profils RISA. Les bactéries capables de dégrader l'atrazine représentent une proportion très faible des bactéries totales du sol. La technique RISA utilisée ici permet de révéler les phylotypes majoritaires. Elle n'est peut être pas assez sensible pour mettre en évidence l'apparition en faible nombre d'espèces dégradantes au sein des échantillons de sol analysés.

Les essais de quantification du gène *atzC* par PCR gigogne compétitive montrent que la présence du gène *atzC* est 5 fois plus importante en début de cinétique de dégradation (temps 0) dans les sols cultivés que dans les sols nus. Ceci rejoint les conclusions précédentes quant à l'effet bénéfique de la culture de maïs sur le potentiel de dégradation du sol. L'augmentation transitoire de la quantité de ce gène dans les échantillons de sols traités révèle un effet stimulant de l'application d'atrazine sur le niveau de présence du gène *atzC*, d'où l'hypothèse d'une prolifération très rapide des micro-organismes possédant le gène *atzC*, capables de dégrader l'atrazine. La présence initiale plus importante de ce gène dans les sols cultivés est probablement responsable du démarrage plus rapide (vitesse initiale supérieure en sols cultivés) de la minéralisation de l'atrazine dans les sols cultivés que dans les sols nus. De plus, l'évolution de la présence du gène *atzC* dans les échantillons est corrélée à la cinétique de minéralisation obtenue. La quantification par PCR gigogne compétitive apparaît donc comme un indicateur permettant le suivi des populations dégradantes dans le sol.

Références bibliographiques

- **Alvey, S. et D.E. Crowley** (1996). Survival et activity of an atrazine-mineralizing bacterial consortium in rhizosphere soil. *Environ. Sci. Technol.* 30:1596-1603.
- **Anderson, T.A., et J.R. Coats** (1995). Screening rhizosphere soil samples for the ability to mineralize elevated concentrations of atrazine and metolachlor. *J. Environ. Sci. Health.* B30:473-484.
- **Anderson, T.A., White, D.C. et B.T. Walton** (1995). Degradation of hazardous organic compounds by rhizosphere microbial communities. *Biotransformations: Microbial Degradation of Health Risk Compounds*. Ved Pal Singh, editor. Elsevier Science B.V. 205-225.
- **Barriuso E. et Houot S.** (1996). Rapid mineralization of s-triazine ring of atrazine in soils in relation to soil management. *Soil Biol. Biochem.*, 28 : 1341-1348.
- **Boyle, J.J. et J.R. Shann** (1995). Biodegradation of phenol, 2,4-DCP, 2,4-D et 2,4,5-T in field-collected rhizosphere et non rhizosphere soils. *J. Environ. Qual.* 24:782-785.
- **Boyle, J.J. et J.R. Shann** (1998). The influence of planting et soil characteristics on mineralisation of 2,4,5-T in rhizosphere soil. *J. Environ. Qual.* 27:704-709.

- **Buyanovsky, G.A., Kremer, R.J., Gajda, A.M. et H.V. Kazemi** (1995). Effect of corn plants et rhizosphere populations on pesticide degradation. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 55:689-696.
- **Chaussod R., Houot S., Guiraud D. et Hétier J.M.** (1988). Size and turnover of the microbial biomass in agricultural soils : laboratory and field measurements. In Nitrogen efficiency in agricultural soils, Eds., Jenkinson DS and Smith KA, 312-326 Elsevier Applied Science, Amsterdam.
- **de Souza M.L., Newcombe D., Alvey S., Crowley D.E., Hay A., Sadowsky M.J. et Wackett L.P.** (1998). Molecular basis of a bacterial consortium : interspecies catabolism of atrazine. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64: 178-184.
- **Haby, P.A. et D.E. Crowley** (1996). Biodegradation of 3 chlorobenzoate as affected by rhizodeposition et selected carbon substrates. *J. Environ. Qual.* 25:304-310.
- **Haller , T. et H. Stolp** (1985). Quantitative estimation of root exudation of maize plants. *Plant and Soil.* 86:207-216.
- **Hsu, T.S. et R. Bartha** (1979). Accelerated mineralization of two organophosphate insecticides in the rhizosphere. *Appl. Environ. Microbiol.* 37:36-41.
- **Mandelbaum R.T., Allan D.L. et Wackett L.P.** (1995). Isolation and characterization of a *Pseudomonas* sp. that mineralizes the s-triazine herbicide atrazine. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61: 1451-1457.
- **Martin-Laurent, F., Philippot, L., Hallet, S., Chaussod, R., Germon, J.C., Soulas, G. et G. Catroux** (2001a). DNA extraction from soils : old bias for new microbial diversity analysis. *Applied and Environmental Microbiology.* 65:1-6.
- **Martin-Laurent, F., Piutti, S., Hallet, S. et G. Soulas** (2001b). Nested competitive PCR as a new tool to monitor 16S, 18S and atzC genes directly from DNA extracted from soils. En preparation pour AEM.
- **Patty L., Réal B. et J.J. Gril** (1997). The use of grassed buffer strips to remove pesticides, nitrate and soluble phosphorus compounds from runoff water. *Pesticide Science.* 49:243-251.
- **Pussemier L., Goux S., Vanderheyden V., Debongnie P., Tresinie I. et Foucart G.** (1997). Rapid dissipation of atrazine in soils taken from various maize fields. *Weed research,* 37: 171-179.
- **Reddy, B.R. et N. Sethunathan** (1983). Mineralization of parathion in the rice rhizosphere. *Appl. Environ. Microbiol.* 45:826-829.
- **Seiler A., Brenneisen P. et Green D.H.** (1992). Benefits and risks of plant protection products-possibilities of protecting drinking water : case of atrazine. *Water Supply,* 10:31-42.
- **Shann, J.R.** (1995). The role of plants et plant/microbial systems in the reduction of exposure. *Environmental Health Perspectives.* 103:13-15.
- **Shimp, J.F., Tracy, J.C., Davis, L.C., Lee, E., Huang, W. et L.E. Erickson** (1993). Beneficial effects of plants in the remediation of soil and groundwater contaminated with organic materials. *Critical reviews in environmental science et technology.* 23:41-77.
- **Soulas G.** (1993). Evidence for the existence of different physiological groups in the microbial community responsible for 2,4-D mineralization in soil. *Soil Biol., Biochem.* 4:443-449.

- **Vance E.D., Brookes P.C. et Jenkinson D.S.** (1987). An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biol. Biochem.* 19: 703-707.
- **Wu, J., Brookes, C. et D.S. Jenkinson** (1990). Evidence for the use of a control in the fumigation incubation method for measuring microbial biomass carbon in soil. *Soil Biol. Biochem.* 28:511-518.