

Biochem-Env, une plateforme au service de la caractérisation biochimique des sols

**Nathalie CHEVIRON^{1,2*}, Virginie GRONDIN^{1,2}, Sylvie NELIEU^{1,2}, Christian MOUGIN^{1,2}
et Isabelle LAMY²**

1 : Plateforme Biochem-Env, INRA, UR251 PESSAC, Route de St-Cyr, Versailles cedex

2 : INRA, UR251 PESSAC, Route de St-Cyr, Versailles cedex

*contact : nathalie.chevion@versailles.inra.fr

Résumé

La plateforme Biochem-Env est une plateforme technique qui permet le développement et la veille technologique sur les outils de caractérisation biochimique (activités enzymatiques globales, biomarqueurs enzymatiques et lipidiques, acides gras phospholipidiques, activité catabolique...) de matrices environnementales solides (sols et sédiments), ainsi que sur les outils de caractérisation biochimique de la macrofaune terrestre et benthique (biomarqueurs enzymatiques, réserves énergétiques...). Elle ambitionne notamment d'améliorer les outils biochimiques existants pour l'évaluation de la qualité biologique des milieux et de proposer à la normalisation AFNOR et ISO de nouveaux protocoles expérimentaux.

La plateforme Biochem-Env se dote actuellement de moyens analytiques permettant d'augmenter ses capacités d'analyse de biomarqueurs enzymatiques et lipidiques. Elle intervient ainsi dans le suivi de sites expérimentaux de longue durée (Systèmes d'observation et d'expérimentation pour la recherche en environnement - SOERE), et des projets de recherches visant à en évidence l'impact de polluants sur le fonctionnement biologique des sols et des organismes du sol.

Introduction

L'infrastructure de recherche « Analyse et Expérimentation sur les Ecosystèmes » ANAEE-S (<http://www.anaee-s.fr>), coordonnée par le CNRS, l'INRA et l'Université Joseph Fourier, constitue la contribution française au projet européen ANAEE, inscrit sur la feuille de route de l'ESFRI, qui intègre les grandes infrastructures de recherche européennes. Le consortium ANAEE-S associe 11 partenaires institutionnels et 30 sites expérimentaux. Il ambitionne de comprendre et de prédire la dynamique de la biodiversité et des écosystèmes dans un contexte de changement global. Il permettra de progresser sur la compréhension des interactions gènes/environnement au travers de plateformes expérimentales et de modélisation dédiées à la biologie des écosystèmes continentaux, terrestres et aquatiques.

Dans ce consortium, la plate-forme Biochem-Env (<http://www.biochemenv.fr>) a pour objectif de fournir des compétences, des installations et des services de caractérisation biochimique des milieux naturels terrestres et aquatiques, ainsi que de la macrofaune associée. Elle a été créée en 2012 avec le soutien du projet ANAEE-S et de l'INRA, au sein de l'unité PESSAC de Versailles.

En plus de l'utilisation d'outils de caractérisation biochimique de la microflore (activités enzymatiques globales, biomarqueurs enzymatiques et lipidiques, acides gras phospholipidiques, activité catabolique...) et de la macrofaune terrestre et benthique, elle propose de construire un Système d'Information Environnemental centré sur le développement d'une base de données. Cette base pourra être à terme interfacée avec d'autres bases nationales comme la base MicroSol de la plateforme Genosol (elle aussi partenaire du consortium ANAEE-S). Ce système d'information permettra de gérer la traçabilité des échantillons, de stocker et d'analyser les données de caractérisation biochimique des sols et de la macrofaune. La base de données permettra d'élaborer un véritable référentiel d'interprétation et de traduction de la diversité fonctionnelle des sols.

La plate-forme Biochem-Env offre :

- un conseil en matière d'échantillonnage de sols, sédiments et macrofaune, de protocoles expérimentaux et d'analyses de données biochimiques,
- la mise à disposition de services innovants en caractérisation biochimique de l'environnement,
- des études de faisabilité technique et matérielle pour des projets associant la plate-forme,
- une formation de personnels techniques, d'étudiants et d'enseignants sur les protocoles expérimentaux mis en œuvre sur la plateforme,
- une implication dans les programmes de recherche collaboratifs régionaux, nationaux et internationaux,
- une veille technologique.

Les outils et compétences disponibles au sein de la plateforme ont été d'ores et déjà mobilisés dans des programmes de recherche nationaux de l'ANR (RESACOR) ou de l'ADEME (programme « Bioindicateurs »). Ce dernier avait pour objectif l'évaluation de la sensibilité et des limites d'utilisation d'indicateurs biologiques de la qualité de sols soumis à différentes contraintes (épandage de déchets, sites contaminés, retombées atmosphériques, gestion de la matière organique, pollution diffuse des sols par les pratiques agricoles). Elle est actuellement partenaire d'un projet soutenu par l'ANR CESA, en lien avec les thématiques de stress multiple, et un projet ECOPHYTO pour le développement d'indicateurs microbiens.

Matériel et méthodes

Les protocoles utilisés sur la plateforme pour les mesures des activités enzymatiques dans les sols sont issus de la large bibliographie qui leur est consacrée [1,2,3,4]. Leur protocoles ont été optimisés et miniaturisés afin d'augmenter le débit d'analyse et le nombre de répliques, d'améliorer la sensibilité et de déterminer avec précision les paramètres cinétiques sur différents sols. La figure 1 résume schématiquement les différentes étapes du mode opératoire qui nécessite un tamisage, des pesées en triplicats, des analyses en microplaques ainsi que des lectures en absorbance en point final ou en cinétique.

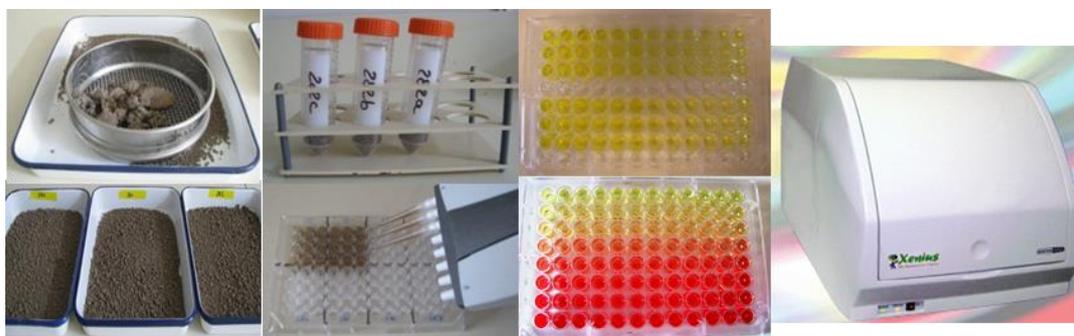


Figure 1 : Illustration des étapes du mode opératoire de mesure des activités enzymatiques

Grâce à l'acquisition d'une plateforme robotisée (figure 2), la quasi-totalité des étapes seront réalisées par l'automate, dès le printemps 2014.



Figure 2 : Plateforme robotisée de mesure des activités enzymatiques

Résultats et discussion

Les mesures de nombreuses activités enzymatiques impliquées dans les cycles CNPS ont été réalisées à grande échelle dans le cadre des projets Bioindicateurs I & II soutenus par l'ADEME. Ces projets avaient parmi leurs objectifs d'améliorer nos connaissances du fonctionnement biologique des sols afin de fournir des indicateurs de qualité des sols, et ainsi de pouvoir orienter plus judicieusement les procédures de gestion des sols.

A une échelle moindre, le programme RESACOR a permis d'orienter les études sur reconversion des sols agricoles contaminés en focalisant sur l'impact des cultures à vocation énergétique sur la biodisponibilité des éléments traces et la relation avec la réponse des organismes du sol. Les résultats obtenus au niveau de l'activité des microorganismes se sont concentrés sur les cycles du carbone (mesures de β -Glucosidase) et de l'azote (activité Uréase). Ils ont notamment mis en évidence que le changement d'occupation des sols pollués entraînait une augmentation significative des activités β -Glucosidase (Figure 3) et Uréase dès la troisième année.

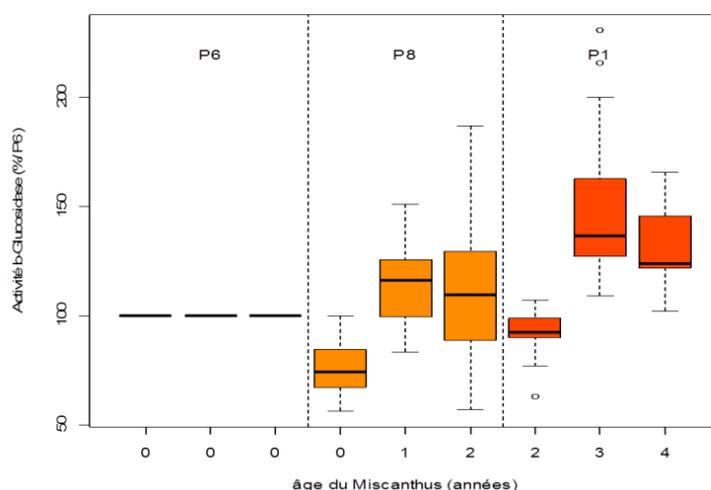


Figure 3 Evolution de l'activité β -Glucosidase sur des parcelles sous grande culture (P6) et sous culture de Miscanthus (P1 et P8) selon l'âge de la culture pérenne

Les mesures réalisées sur les sols agricoles contaminés ont permis de :

- Discriminer les parcelles sous cultures des parcelles sous cultures pérenne,
- Discriminer différents niveaux de contamination sous cultures,
- Discriminer l'effet du niveau de contamination par rapport au couvert végétal en mettant en évidence le rôle prépondérant de certaines activités enzymatiques.

Conclusions et perspectives

Les outils disponibles au sein de la plateforme ont été mobilisés dans des programmes visant à évaluer la sensibilité et les limites d'utilisation d'indicateurs biologiques de la qualité de sols soumis à différentes contraintes (épandage de déchets, sites contaminés, retombées atmosphériques, gestion de la matière organique, pollution diffuse des sols par les pratiques agricoles).

Notre objectif, pour faciliter le diagnostic de l'état biochimique des sols basé sur la mesure des activités enzymatiques, est de pouvoir choisir ces activités en fonction de la question agronomique ou environnementale posée, et de les replacer dans un référentiel dédié. Pour cela, l'élaboration de ce référentiel et d'un indice multienzymatique constituent des étapes à venir indispensables.

Références

- [1] Anastasi, A., Coppola, T., Prigione V., and Varese, GC. a (2009) Pyrene degradation and detoxification in soil by a consortium of basidiomycetes isolated from compost: Role of laccases and peroxidases. *Journal of Hazardous Materials* **165** 1229–1233
- [2] Tabatabai, M.-A, Garcia-Manzanedo, A.-M, Acosta-Martinez, V. (2002). Substrate specificity of arylamidase in soils. *Soil Biology & Biochemistry*, **34**, 103-110.
- [3] de Santiago-Martin, A., Cheviron, N., Quintana, J.-R, Gonzalez, C, Lafuente, A.-L, Mougin, C. (2013). Metal Contamination Disturbs Biochemical and Microbial Properties of Calcareous Agricultural Soils of the Mediterranean Area. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **64**, 388-398.
- [4] Eivazi, F., Tabatabai, M.-A., (1990). Factors affecting glucosidase and galactosidase activities in soil. *Soil Biology & Biochemistry*, **39**, 891-897.

Remerciements

Les auteurs remercient l'ensemble des partenaires du programme ANR 2008 CES 012 01 « RESACOR ». La plateforme a bénéficié d'une aide de l'Etat gérée par l'Agence Nationale de la Recherche au titre du programme « Investissements d'Avenir » portant la référence ANR-11-INBS-0001AnaEE-Services.