

Journée technique

« Sols urbains vivants : connaître, aménager, restaurer »

Quelles méthodes ? Quelles approches ?

Antonio Bispo (ADEME)



**29 Novembre 2016
AgroParisTech**



2015
Année internationale
des sols





Des méthodes pour quoi faire ?

- **Connaitre la biodiversité / l'activité des organismes du sols**

*« Les sols sont la dernière frontière biotique »
Soils, the final frontier. Science*

- **Renseigner/comparer/surveiller l'état du milieu (et les transferts de contaminants)**

« Ce qui est inquiétant pour les sociétés humaines, ce n'est pas la disparition de l'ours, mais celle des bactéries dans les sols » Bruno David

Directeur scientifique de l'Institut Français de la Biodiversité

- **Piloter/orienter le fonctionnement biologique pour tirer profit des organismes du sol**

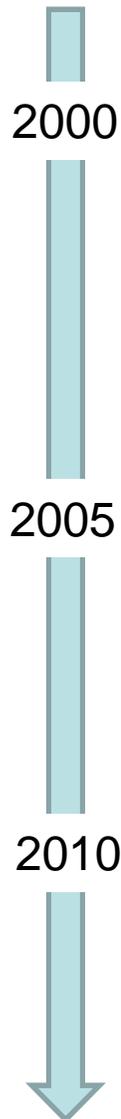
« Trois tonnes de vers de terre à l'hectare, ça vous remue 280 tonnes de terre. Pendant ce temps-là, vous n'avez pas besoin de labourer » Stéphane Le Foll et son "camarade" le ver de terre, 3^{ème} conférence environnementale à Paris.



De quoi a-t-on besoin ?

1. Méthodes pour mesurer la biodiversité et l'activité biologique des sols
2. Références pour interpréter les résultats et poser un diagnostic
3. Recommandations pour maintenir, améliorer, orienter la biodiversité et l'activité biologique

Depuis 15 ans plusieurs programmes de recherche clés ...



- Le **programme GESSOL** du MEDDE finance des projets (www.gessol.fr) :
 - Microbiologie des sols : développement de l'extraction de l'ADN des sols et de son analyse
 - Mesure de la macrofaune totale des sols
- Mise en place de programmes **nationaux et européens**
 - Le programme EU ENVASSO propose des outils de surveillance de la qualité des sols intégrant la biodiversité des sols
 - Le programme ADEME teste **un ensemble d'outils sur 13 sites** à travers la France
 - Les projets implantés sur le Réseau de Mesure de la Qualité des Sols (RMQS) soutenus par l'ADEME et/ou l'ANR étudient la **répartition spatiale** des organismes du sol.
 - Lancement de projets CASDAR du MAAF
- Lancements de **projets EU d'ampleur** sur la biodiversité des sols et les services écosystémiques (ex : EcoFinders)





Le programme ADEME – Bioindicateur de la qualité des sols (2004 – 2012)

○ Origine :

- **Communication EU sur les sols (2002) considérant la biodiversité des sols**
- **Développement de normes « DCE » pour juger du « bon état écologique des masses d'eau »**
- **Emergence de projets de normalisation ISO sur la qualité biologique des sols**

○ Objectifs :

- **Acquisition de connaissances, mise en réseau et renforcement de l'expertise nationale**
- **Obtention d'un retour d'expérience sur les bioindicateurs (existants et en développement)**
- **Détermination de la pertinence des bioindicateurs pour différentes applications (surveillance, évaluation de risques, état biologique des sols)**
- **Proposition de batteries de bioindicateurs pertinents (sensibilité, reproductibilité, transférabilité)**
- **Développement de valeurs de référence, calibrage des réponses biologiques dans différents contextes**



Programme ADEME

Comparaison des outils sur les mêmes terrains

Coordination ADEME (A. Bispo et C. Grand)
& Univ. Rennes (Guénola Pérès)



Indicateurs Microbiens

Quantité
Activité
Structure génétique



Indicateurs Faune

Quantité
Composition communautés
Bioaccumulation



Indicateurs Flore

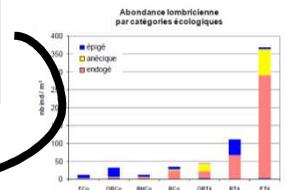
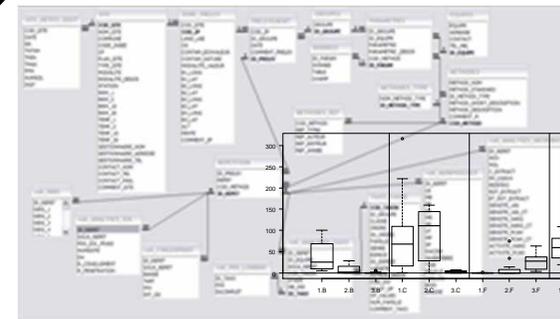
Marqueurs d'exposition
Bioaccumulation



13 sites « atelier »

Sites agricoles
Sites forestiers
Sites contaminés

Base de données
Traitement de données



Proposition d'indicateurs & référentiels

Un réseau d'experts nationaux (22 équipes de recherche - 70 partenaires)

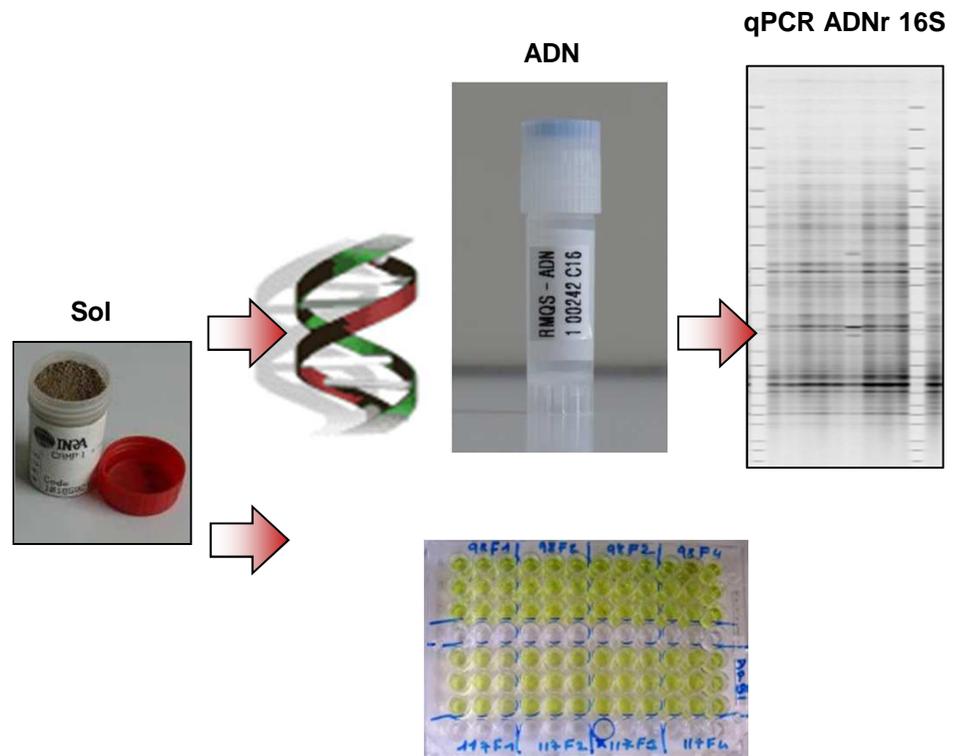


Outils disponibles pour la caractérisation des sols (agricoles et forestiers)

Classiques ...

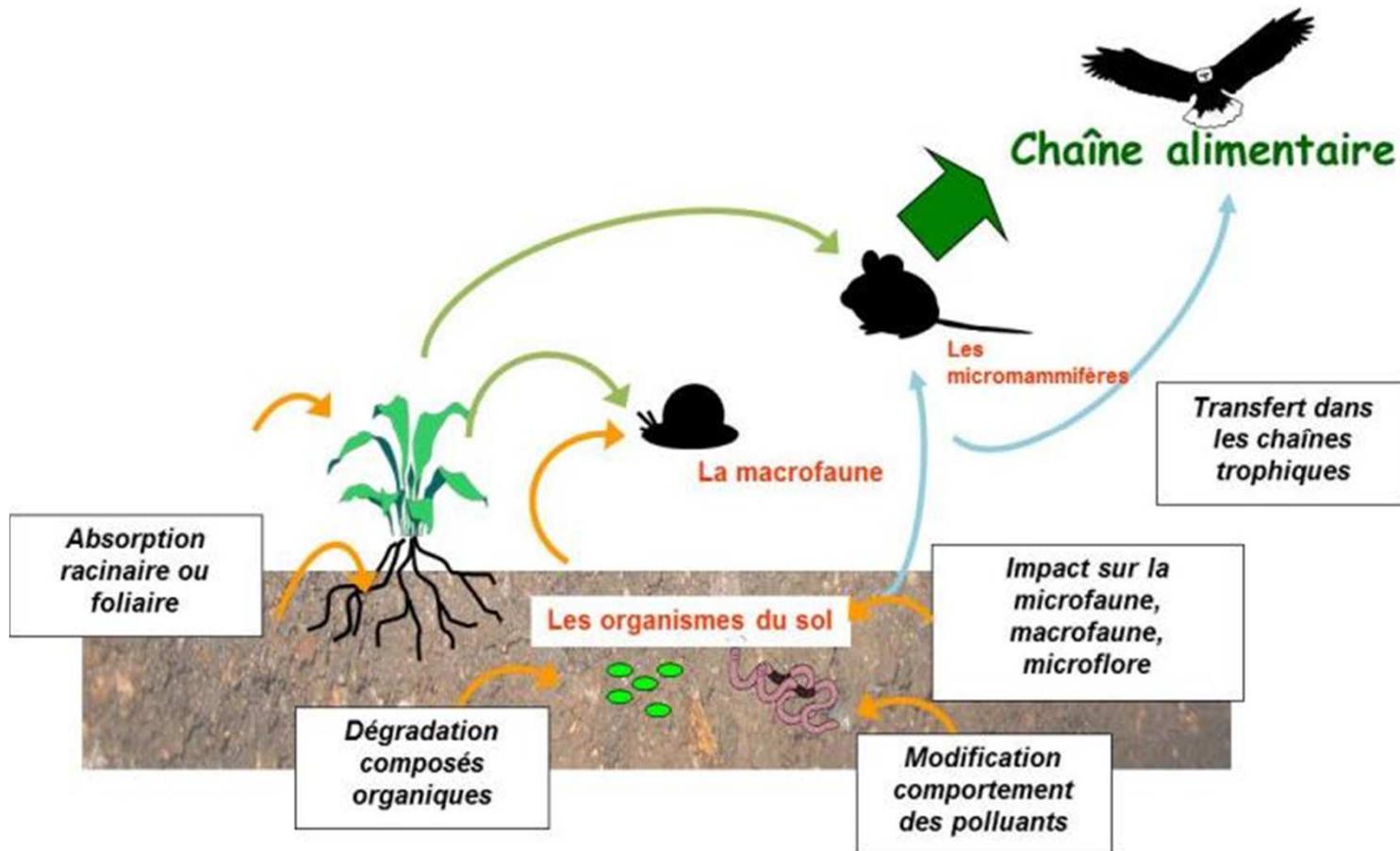


Plus technologiques ... (*Méthodes basées sur l'extraction de l'ADN microbien ou des analyses chimiques et biochimiques*)



Outils pour analyser les transferts et les effets des polluants

Les organismes du sol sont les premiers maillons de la chaîne trophique



Les outils biologiques : Effet des contaminants

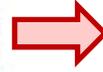
Indice Oméga 3



Prélèvement feuilles d'espèces végétales



Chromatographie en phase gazeuse

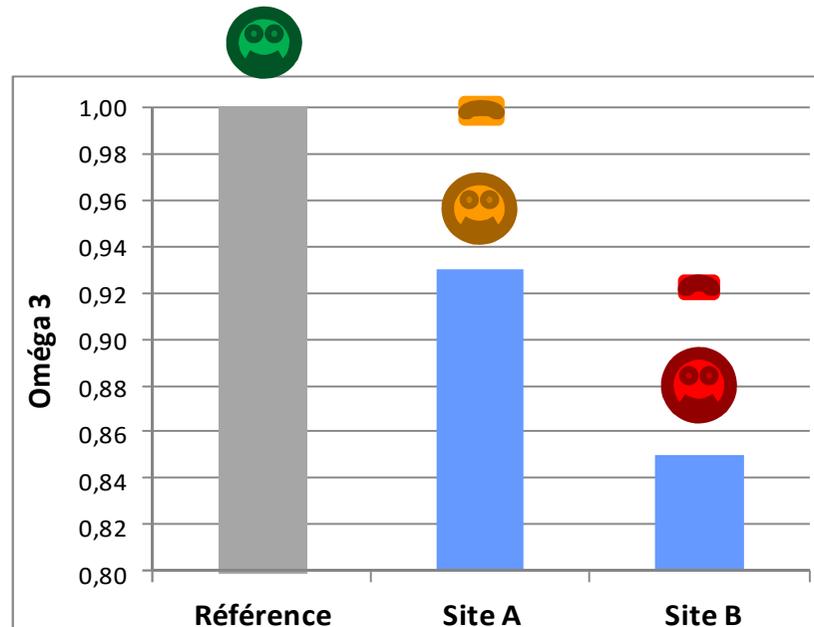


Mesure de la teneur en Oméga3



Calcul de l'indice Oméga 3

$$\frac{(C18:3)}{((C18:0)+(C18:1)+(C18:2))}$$



Les outils biologiques : Bioaccumulation

Végétaux : PhytoMet Escargots : SET



Prélèvement d'un pool d'espèces végétales



ICP MS



Excès de Charge
métalliques

$$EC_{\text{métal}} = (\text{MObs} - \text{MedT}) * \text{FreqOut} / \text{MedT}$$



**CET : Charge
Élémentaire Totale**

$$CET = \sum EC_{\text{métal}}$$



Exposition des escargots pendant 28 jours



ICP MS / AES



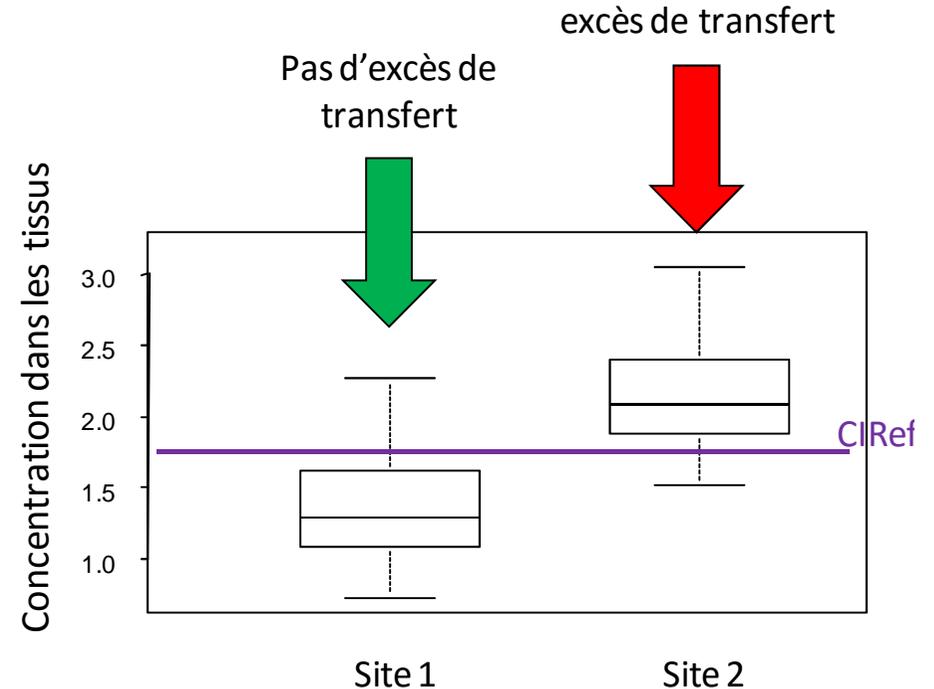
Quotient
d'Accumulation

$$QA = (C_{\text{esc}} / CI_{\text{Ref}})$$



**SET : Somme des
excès de transfert**

$$SET = \sum (QA - 1)$$



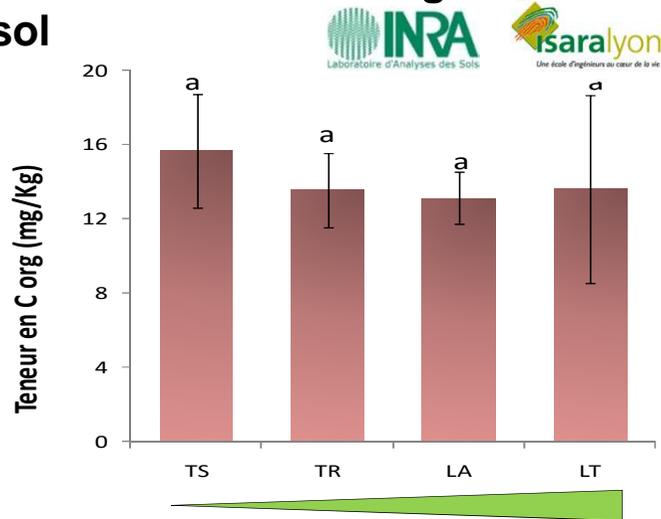


Quelques résultats



Complémentarité des indicateurs chimiques et biologiques – Site Thill (ISARA)

Teneur en carbone organique du sol

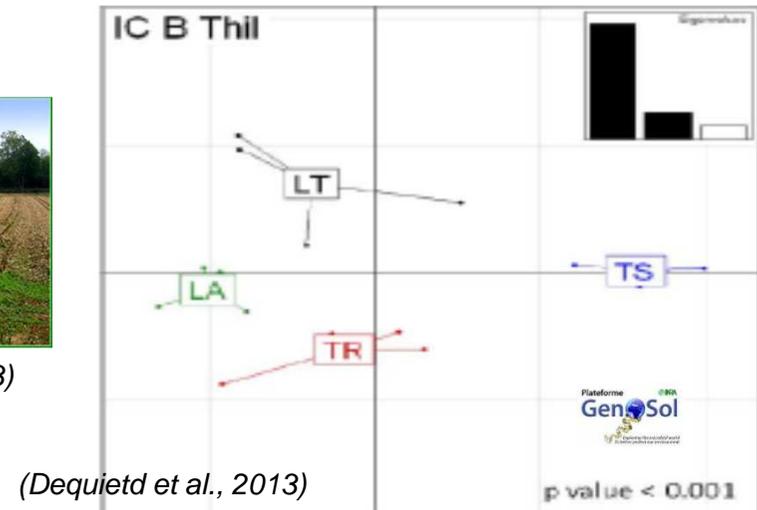


Travail du sol

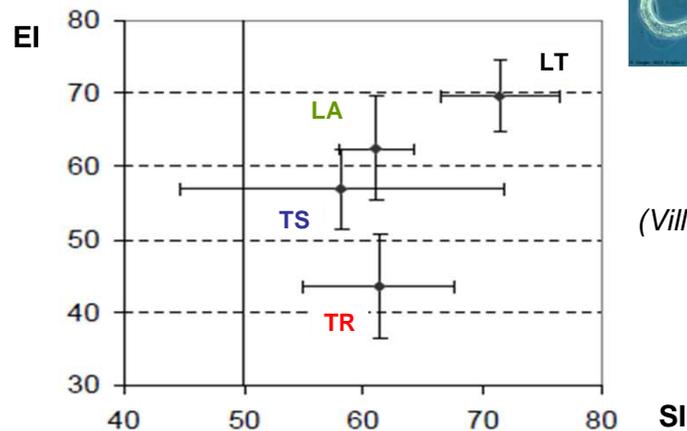


(Vian et al., 2013)

Diversité microbienne (empreinte ADN)

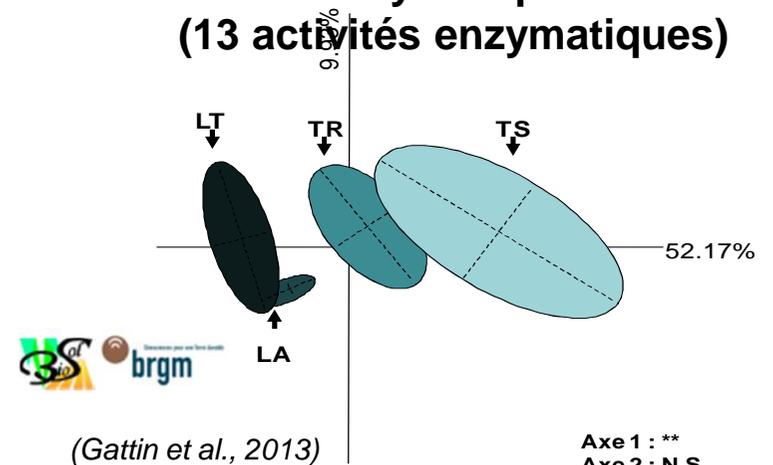


Diversité fonctionnelle (Nématodes)



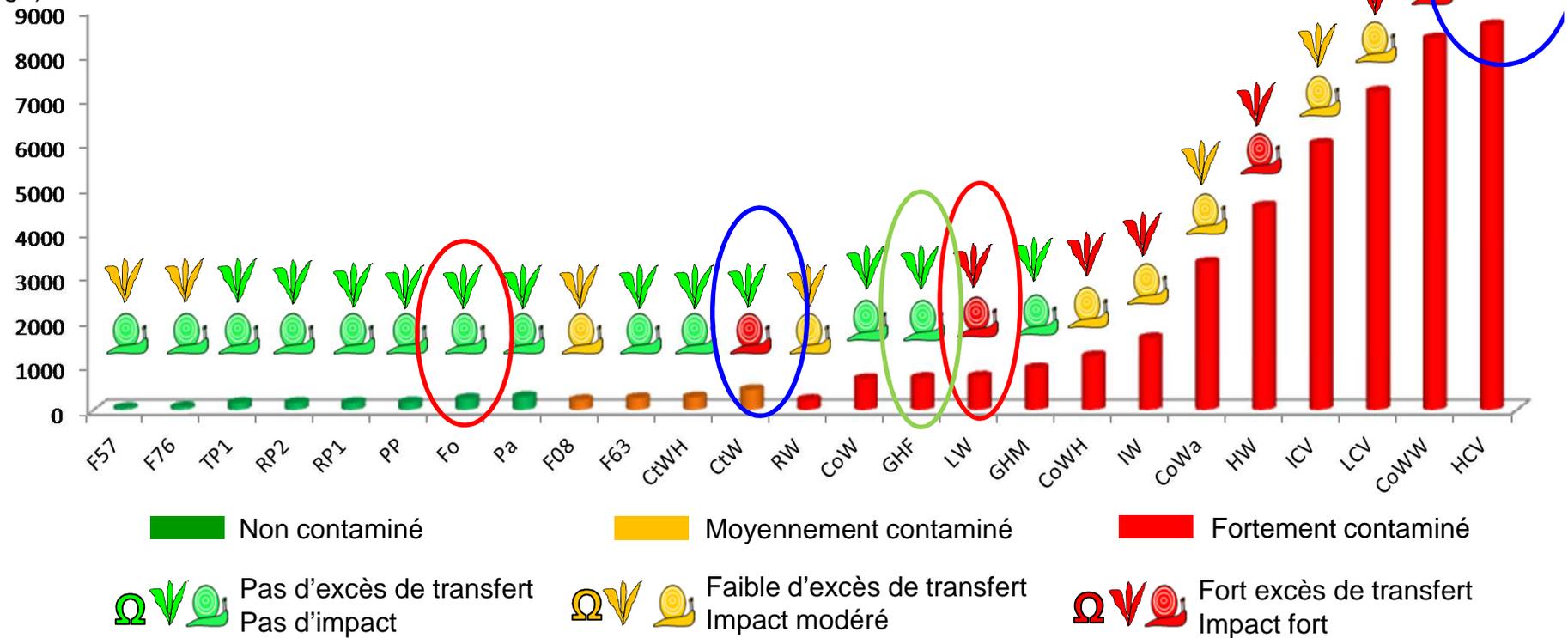
(Villeneuve et al., 2013)

Activités enzymatiques (13 activités enzymatiques)



Les transferts des polluants

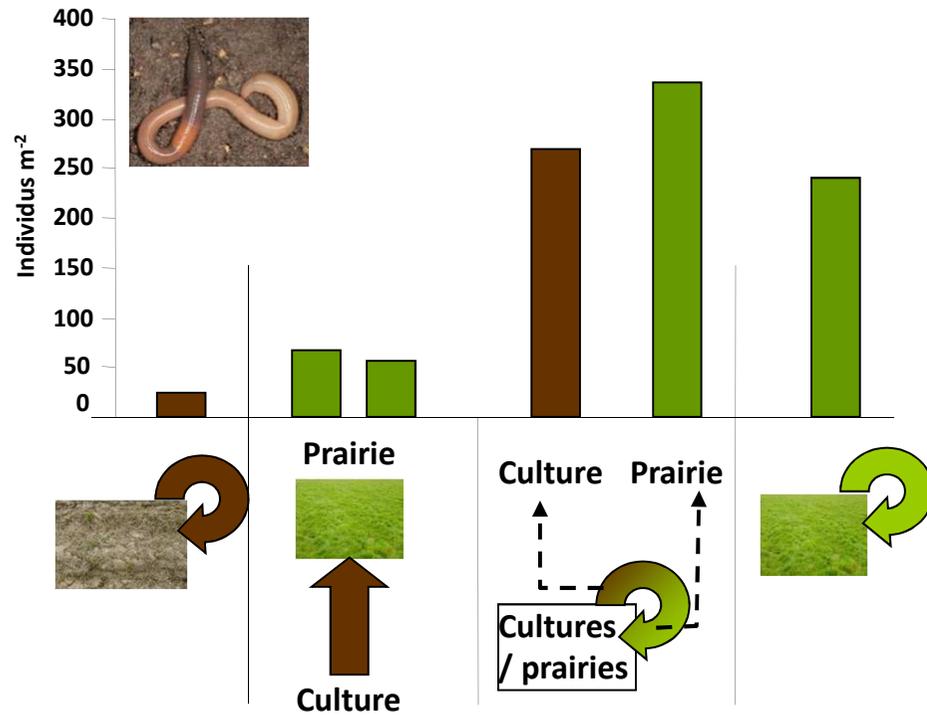
ETM Totaux dans les sols
(mg.kg^{-1})



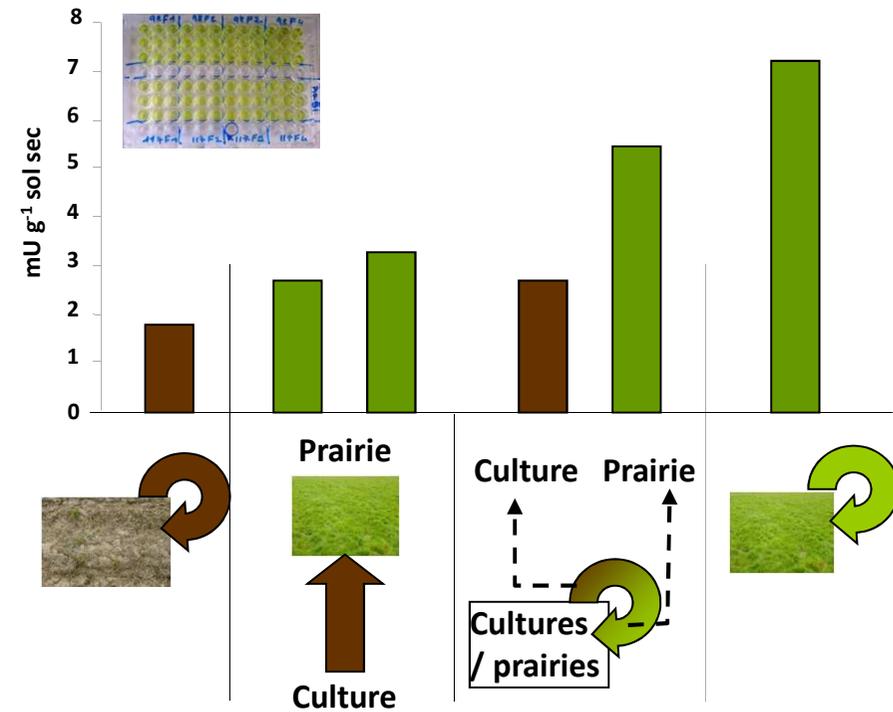
- ➔ Données physico-chimiques ne permettent pas de rendre compte des transferts vers les organismes vivants et leurs effets
- ➔ Nécessité d'outils complémentaires aux analyses physico-chimiques (biodisponibilité, transfert, effets des contaminants)

Restauration de la composante biologique – Site Yvetot (ESITPA)

Abondance lombricienne



Activité enzymatique arylsulfatase (Cycle du soufre)





Des recommandations sur le choix des indicateurs ...

Besoins	Famille	Paramètres
Effet des différentes pratiques (ex : labour, système de culture, rotations)	Microbiologie	Abondance : Biomasses bactérienne & fongique Diversité des communautés Activités liées notamment au C, S, N et P
	Faune	Diversité fonctionnelle des lombriciens (catégories écologiques) Diversité fonctionnelle des nématodes Diversité des collemboles (en arboriculture)
Bio-accumulation	Flore	Bioaccumulation végétaux
	Faune	Bioaccumulation escargot
Effets liés à la contamination (organique et inorganique)	Microbiologie	Abondance bactérienne et fongique Diversité bactérienne et fongique Minéralisation du C Activités enzymatiques: laccases, β -glucosidase, arylsulfatase, BIOLOG
	Faune	Abondance et Diversité des lombriciens Abondance et Diversité des nématodes Abondance et Diversité de la macro/mésafaune
	Flore	Test Oméga 3

Méthodes normalisées

ISO 23611-1:2006	Sampling of soil invertebrates -- Part 1: Hand-sorting and formalin extraction of earthworms
ISO 23611-2:2006	Sampling of soil invertebrates -- Part 2: Sampling and extraction of micro-arthropods (Collembola and Acarina)
ISO 23611-3:2007	Sampling of soil invertebrates -- Part 3: Sampling and soil extraction of enchytraeids
ISO 23611-4:2007	Sampling of soil invertebrates -- Part 4: Sampling, extraction and identification of soil-inhabiting nematodes
ISO 23611-5:2011	Sampling of soil invertebrates -- Part 5: Sampling and extraction of soil macro-invertebrates
ISO 23611-6:2012	Sampling of soil invertebrates -- Part 6: Guidance for the design of sampling programmes with soil invertebrates
ISO 11063:2012	Method to directly extract DNA from soil samples
ISO 18311 : 2015	Method for testing effects of soil contaminants on the feeding activity of soil dwelling organisms -- Bait-lamina test
ISO 14238:2012	Biological methods -- Determination of nitrogen mineralization and nitrification in soils and the influence of chemicals on these processes
ISO 14239:1997	Laboratory incubation systems for measuring the mineralization of organic chemicals in soil under aerobic conditions
ISO 16072:2002	Laboratory methods for determination of microbial soil respiration
ISO 17155:2012	Determination of abundance and activity of soil microflora using respiration curves
ISO/DIS 17601:2015	Estimation of abundance of selected microbial gene sequences by quantitative realtime PCR from DNA directly extracted from soil
ISO/TS 22939:2010	Measurement of enzyme activity patterns in soil samples using fluorogenic substrates in micro-well plates
ISO 10381-6:2009	Sampling -- Part 6: Guidance on the collection, handling and storage of soil under aerobic conditions for the assessment of microbiological processes, biomass and diversity in the laboratory
ISO 14240-1:1997	Determination of soil microbial biomass -- Part 1: Substrate-induced respiration method
ISO 14240-2:1997	Determination of soil microbial biomass -- Part 2: Fumigation-extraction method
ISO 23753-1:2005	Determination of dehydrogenase activity in soils -- Part 1: Method using triphenyltetrazolium chloride (TTC)
ISO 23753-2:2005	Determination of dehydrogenase activity in soils -- Part 2: Method using iodotetrazolium chloride (INT)
ISO/TS 29843-1:2010	Determination of soil microbial diversity -- Part 1: Method by phospholipid fatty acid analysis (PLFA) and phospholipid ether lipids (PLEL) analysis
ISO/TS 29843-2:2011	Determination of soil microbial diversity -- Part 2: Method by phospholipid fatty acid analysis (PLFA) using the simple PLFA extraction method



Bilan

De quoi a-t-on besoin ?

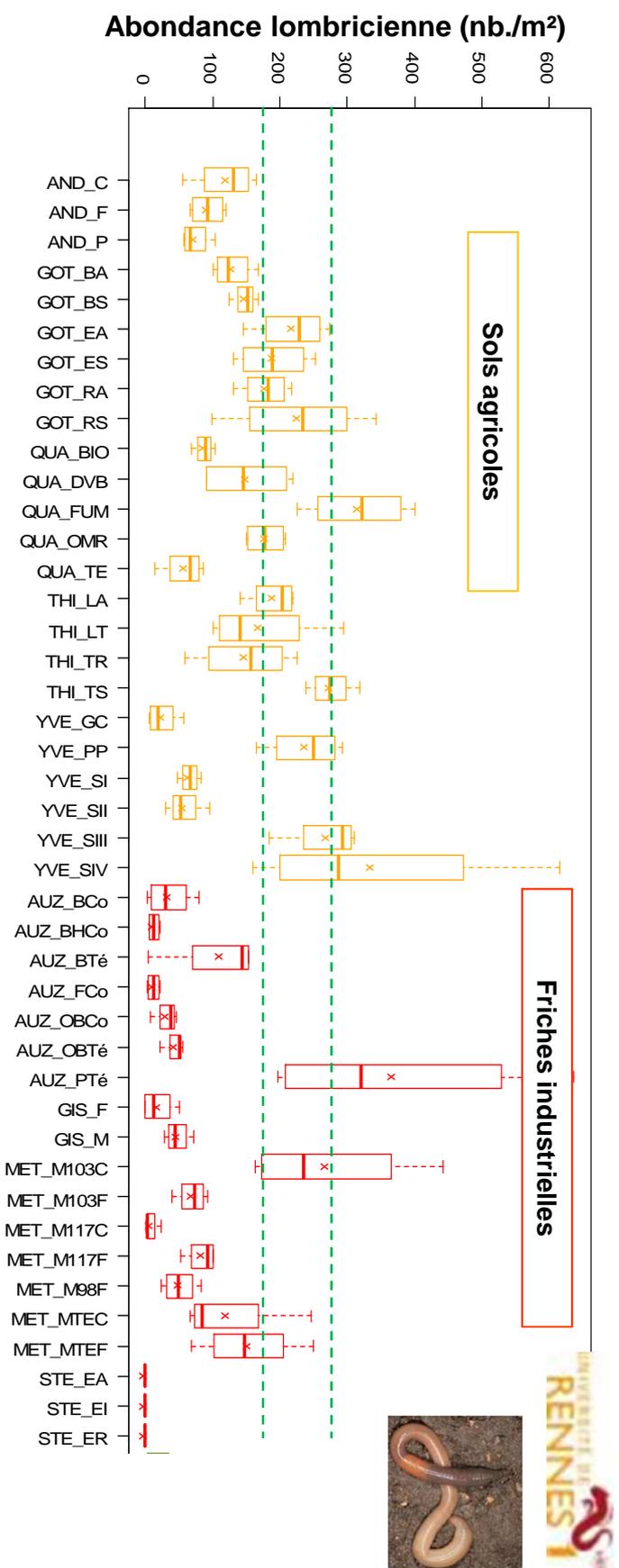
1. Méthodes pour mesurer la biodiversité et l'activité biologique des sols
2. Références pour interpréter les résultats et poser un diagnostic
3. Recommandations pour maintenir, améliorer, orienter la biodiversité et l'activité biologique

Qu'est-ce qu'on a ?

1. Bcp méthodes (trop ?)



Une proposition de premiers référentiels

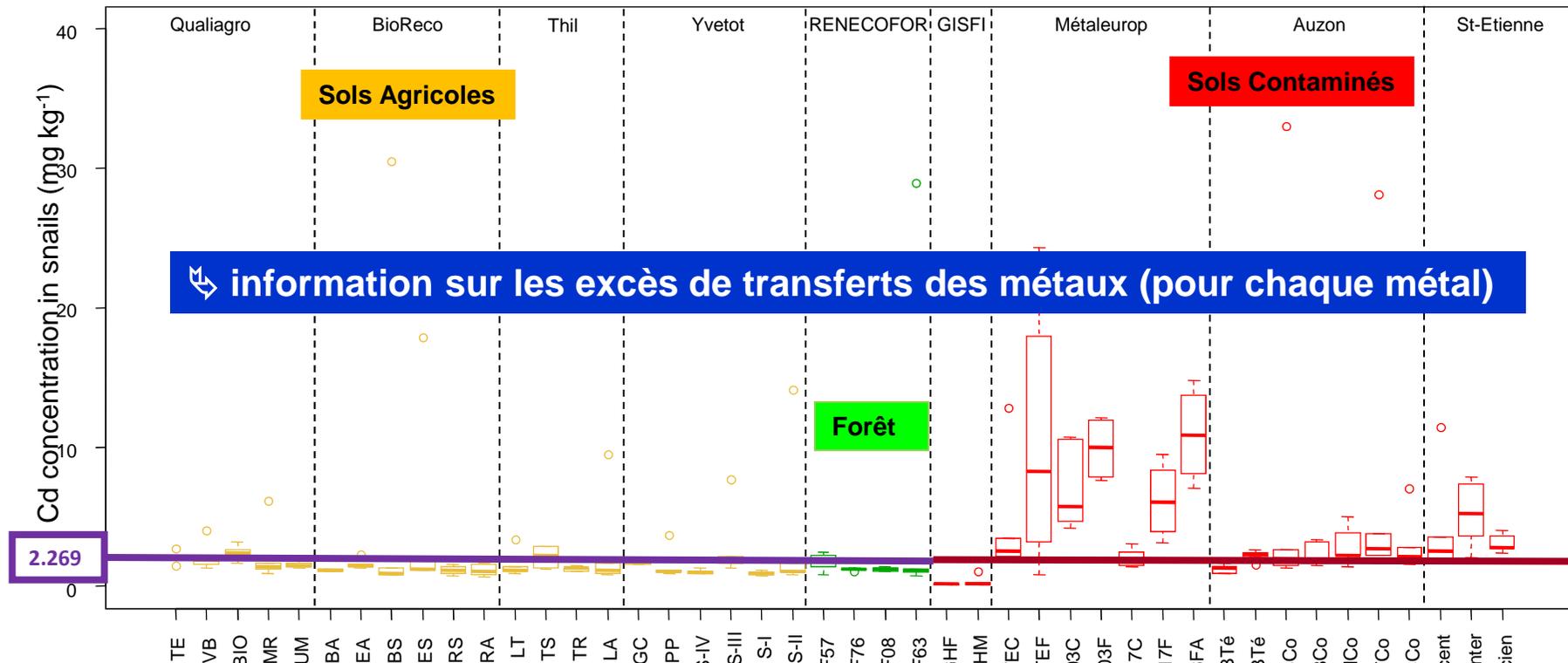


(Péres et al., 2013)



Initiation d'un référentiel

Exemple: gamme de variation des concentrations de Cd concentration dans escargots (après 28 jours)



Valeurs de concentrations de Cd dans les escargots dans sols non contaminés

- ➔ Valeur de référence « concentration interne de référence » CIRef pour tous les métaux
- ➔ comparaison entre cette CIRef et les valeurs mesurées sous cites contaminés



Site web du programme ADEME

<http://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/ADEME-Bioindicateur/index.php>



Outils disponibles :

- Base de données
- Choisissez votre indicateur
- Fiches outils1

A venir :

- Vidéos sur les outils
- Protocoles simplifiés
- Les batteries types



Sur le site...

• Références

Ver de terre

Unité : Abondances: nombre d'individus par m² & Biomasse: g par m²

N= 47	MIN	MAX	AVG	STD
Abondance totale	0	636	117	113
Biomasse totale	0	423	56	62
Abondance Epigés	0	191	14	28
Abondance Anéciques	0	224	49	56
...	
Richesss	0	9	4	2
Diversité	0.00	1.86	0.91	0.55
Equitabilité	0.00	1.00	0.62	0.32

• Des contacts et des prestataires

...

• Fiches « méthodes » décrivant les indicateurs

FICHE OUTIL F2
Les vers de terre
 G. Péro, D. Chenu, H. Hottel, N. Doléau, A. Col., UMR 6059 EcoEco, Université de Rennes 1
 Contact : deniel.chenu@univ-rennes1.fr

DESCRIPTION DE L'INDICATEUR
 Nom de l'indicateur: FICHE OUTIL F1
Les escargots
 A. de Vauleury, B. Puyot, A. Col., UMR 6149 Chimie-Environnement, Senago
 Contact : amylene.devaux@univ-rennes1.fr

DESCRIPTION DE L'INDICATEUR
 Nom de l'indicateur: Les escargots, bioindicateurs de la biodisponibilité de contaminants sur site - indice SET: Somme des Exces de Transfert.

FICHE OUTIL M1
Les activités enzymatiques
 Nathalie CHOUDEVY, Françoise CHOUDEVY, Olivier MATHIEU, Vincent BOUT, Pierre CHOUDEVY, Anne LENO, Isabelle GUYOT, et Olivier MATHIEU

DESCRIPTION DE L'INDICATEUR
 Nom de l'indicateur: Depuis plusieurs décennies, les activités enzymatiques sont considérées comme de bons indicateurs du fonctionnement biochimique des sols, qu'ils soient naturels ou anthropiques. Souvent associées à l'activité des microorganismes, elles permettent la fourniture par le sol de nombreux services écosystémiques tels que le développement des plantes cultivées, la productivité animale, la qualité de l'environnement, la santé humaine...
 Type d'indicateur: Associées aux grands cycles biogéochimiques comme celui de l'azote (Figure 1), sensibles à bon nombre de pressions anthropiques, les activités enzymatiques des sols présentent un potentiel important de bioindication. Ce sont des biomarqueurs de fonctionnement du sol.

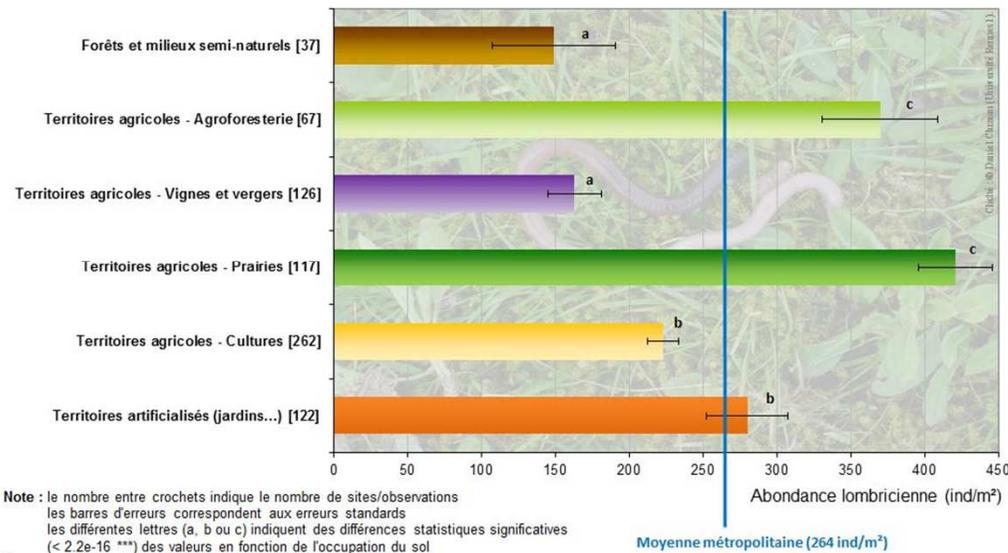
DESCRIPTION DE LA MÉTHODE
 Malgré les grandes controverses portant sur l'interprétation des résultats issus des mesures d'activités enzymatiques dans les sols, nombreux de protocoles ont été développés pour un panel large d'enzymes, incluant des hydrolases et oxydoréductases. Celles-ci diffèrent par la nature du substrat utilisé, les conditions opératoires (notamment du pH), les temps d'incubation et les méthodes de détection (colorimétrique, fluorimétrique ou radiométrique).
 Les différentes étapes sont (Figure 2):
 • Préparation de sols sur 0-20 cm d'un échantillon représentatif de la parcelle (3-5 points par parcelle)
 • Homogénéisation, tamisage et pesée des sols
 • Préparation d'une solution de sol, et répartition en microplaque
 • Ajout d'un substrat spécifique et incubation
 • Arrêt de la réaction et lecture au spectrophotomètre
 • Sortie et analyse des résultats

Figure 2 : Description des différentes étapes de mesure des activités enzymatiques

Site web de l'Observatoire National de la Biodiversité

<http://indicateurs-biodiversite.naturefrance.fr/>

Abondance lombricienne des sols en métropole sur la période 2005-2015, en fonction du type d'occupation du sol

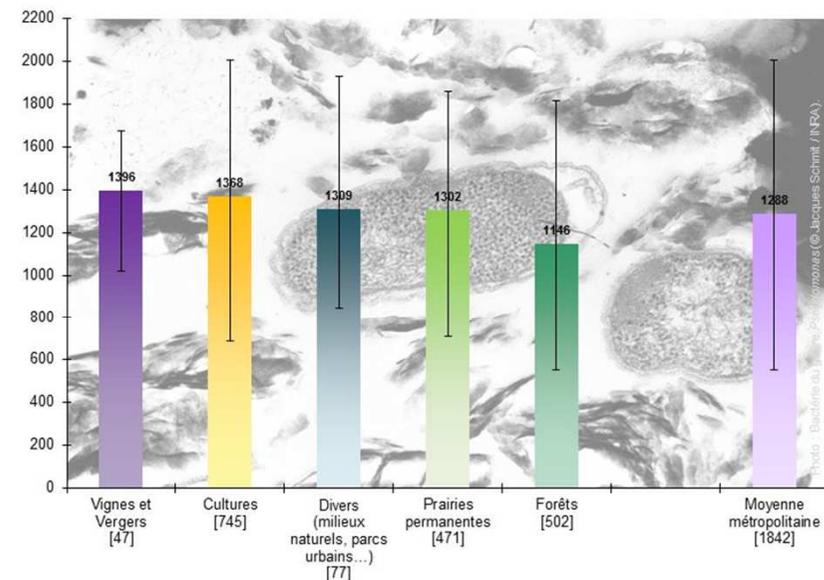


Note : le nombre entre crochets indique le nombre de sites/observations
les barres d'erreurs correspondent aux erreurs standards
les différentes lettres (a, b ou c) indiquent des différences statistiques significatives (< 2.2e-16 ***) des valeurs en fonction de l'occupation du sol
Source : © Université de Rennes1, UMR 6553 EcoBio, 2015.

Lombriciens

Bactéries

Nombre de taxons bactériens dans les unités pédo-écologiques françaises



Note : [] = nombre de sites
Source : INRA, plateforme GenoSol, UMR Agroécologie - GIS Sol, 2016.



Bilan

De quoi a-t-on besoin ?

1. Méthodes pour mesurer la biodiversité et l'activité biologique des sols
2. Références pour interpréter les résultats et poser un diagnostic
3. Recommandations pour maintenir, améliorer, orienter la biodiversité et l'activité biologique

Qu'est-ce qu'on a ?

1. Bcp méthodes (trop ?)
2. Premiers référenciels (*ADEME et autres programmes*) pour poser un diagnostic
3. Deux situations, deux questions :
 - Dans la fourchette de référence: comment maintenir ou améliorer l'état satisfaisant ?
 - Hors de cette fourchette : que dois-je changer ?

Des solutions générales connues...

- **Pratiques agricoles** : impact du labour, apport de matière matières organiques ...
- **Nourrir les organismes du sol** : rotation, plantes de couverture, association de plantes...
- **Echelle du paysage** : haies, agroforesterie, connectivité entre les parcelles ...

... mais un savoir encore trop général pour un conseil local/personnalisé.

Travaux à poursuivre... (notamment sur les sols urbains pour un meilleur retour d'expérience)



Les leçons et perspectives

- Les sols **ne sont pas morts**... et des solutions existent pour améliorer leur statut biologique
- Les bioindicateurs sont **complémentaires** des analyses physico-chimique (ne s'y substituent pas)
- Les outils sont **disponibles et mûrs**... pour surveiller/diagnostiquer des situations grâce à des **référentiels** qui s'étoffent
- Les **prestataires** existent déjà... avec des prix quasi-comparables aux analyses physico-chimiques...
- ... mais il reste à progresser dans le conseil... pour mieux piloter la biodiversité des sols

La bioindication, c'est déjà possible et ce sera nécessaire pour diagnostiquer et piloter plus écologiquement les sols.



MERCI DE VOTRE ATTENTION

