

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



SOERE-PRO

Annette Bérard,  
Christophe Mazzia, Valérie Sappin-Didier, Yvan Capowiez

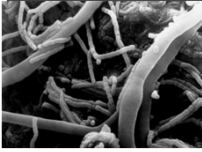
UMR 1114 EMMAH Avignon

UR 1115 PSH Avignon

UMR 406 Avignon

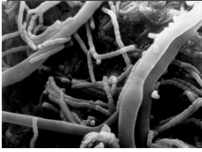
UMR 1220 TCEM Bordeaux





## PICT : Pollution-Induced Community Tolerance

Hypothèse : une communauté exposée à un toxique soupçonné, présentera une tolérance accrue à ce toxique



## PICT : Pollution-Induced Community Tolerance

Hypothèse : une communauté exposée à un toxique soupçonné, présentera une tolérance accrue à ce toxique

### Intérêt

« *Exposition-Impact-Indicateur environnemental* »

- **Cognitif** ☞ répondre aux questions sur la dynamique et le fonctionnement des écosystèmes face à des perturbations ou stress (*diversité taxonomique et fonctionnelle, structuration, résistance, résilience, redondance, discontinuité écologique, coût de la tolérance*) à l'échelle de la communauté

- **Application** ☞ répondre à la demande de bioindication

**Bioévaluation des milieux contaminés:** *évaluer les milieux et actions de restauration (dans le contexte aquatique : Directive Cadre Eau, pour les sols la future Directive Cadre Sols ?)*

**Evaluation à priori du risque écotox:** *pour la mise sur le marché de substances chimiques (directive REACH)*

# COMMUNAUTÉS MICROBIENNES

participent aux « services écologiques » des sols  
structure,  
mise à dispo de nutriments,  
cycles géochimiques ...

tolérance

toxique

à ce toxique

« *functional* »

le fonctionnement

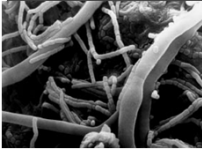
économique et

écologique, coût de la

actions de restauration

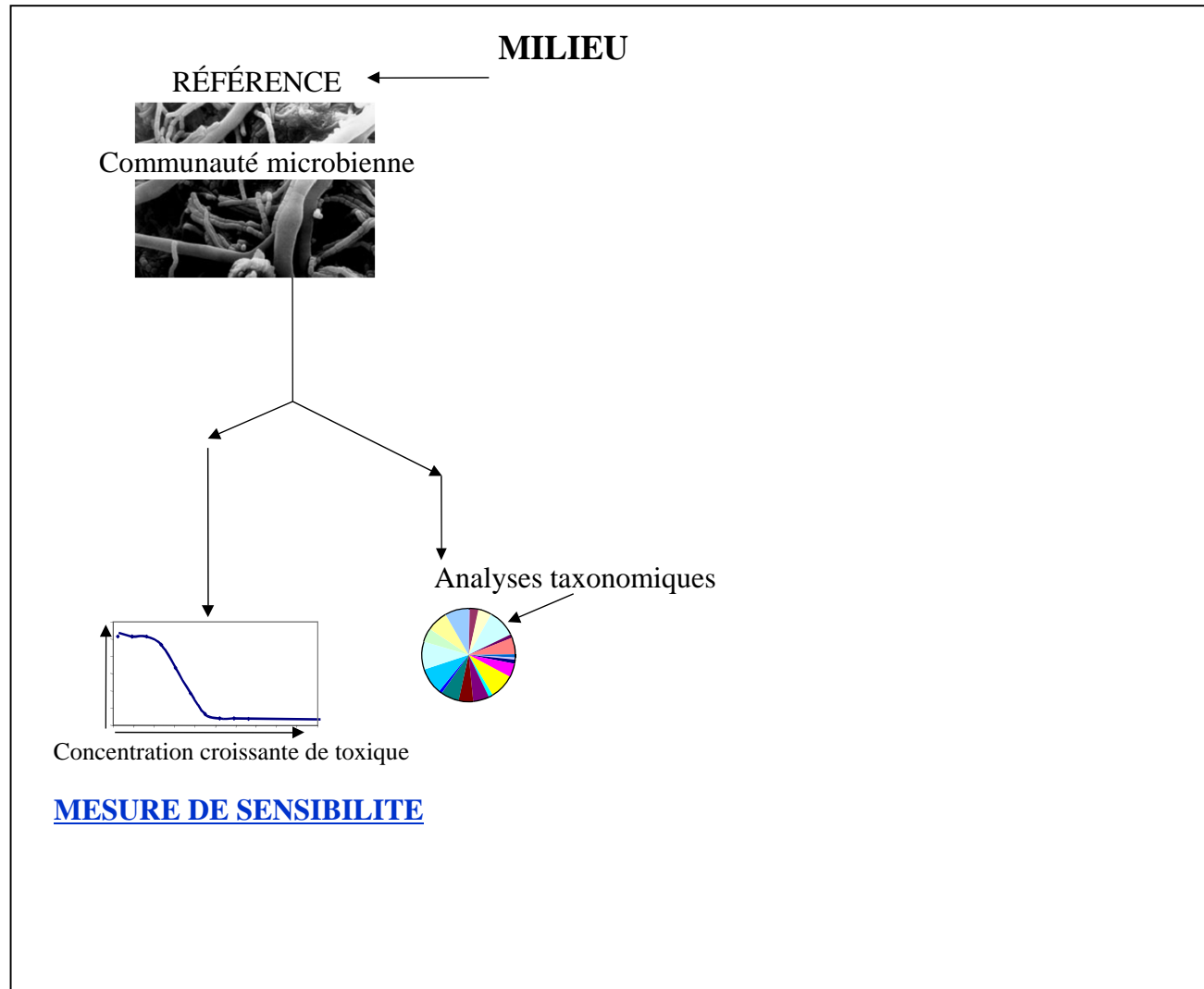
(directive Cadre Sols ?)

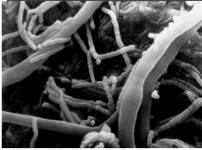
**Evaluation à priori du risque écotox: pour la mise sur le marché de substances chimiques (directive REACH)**



# Pollution Induced Community Tolerance

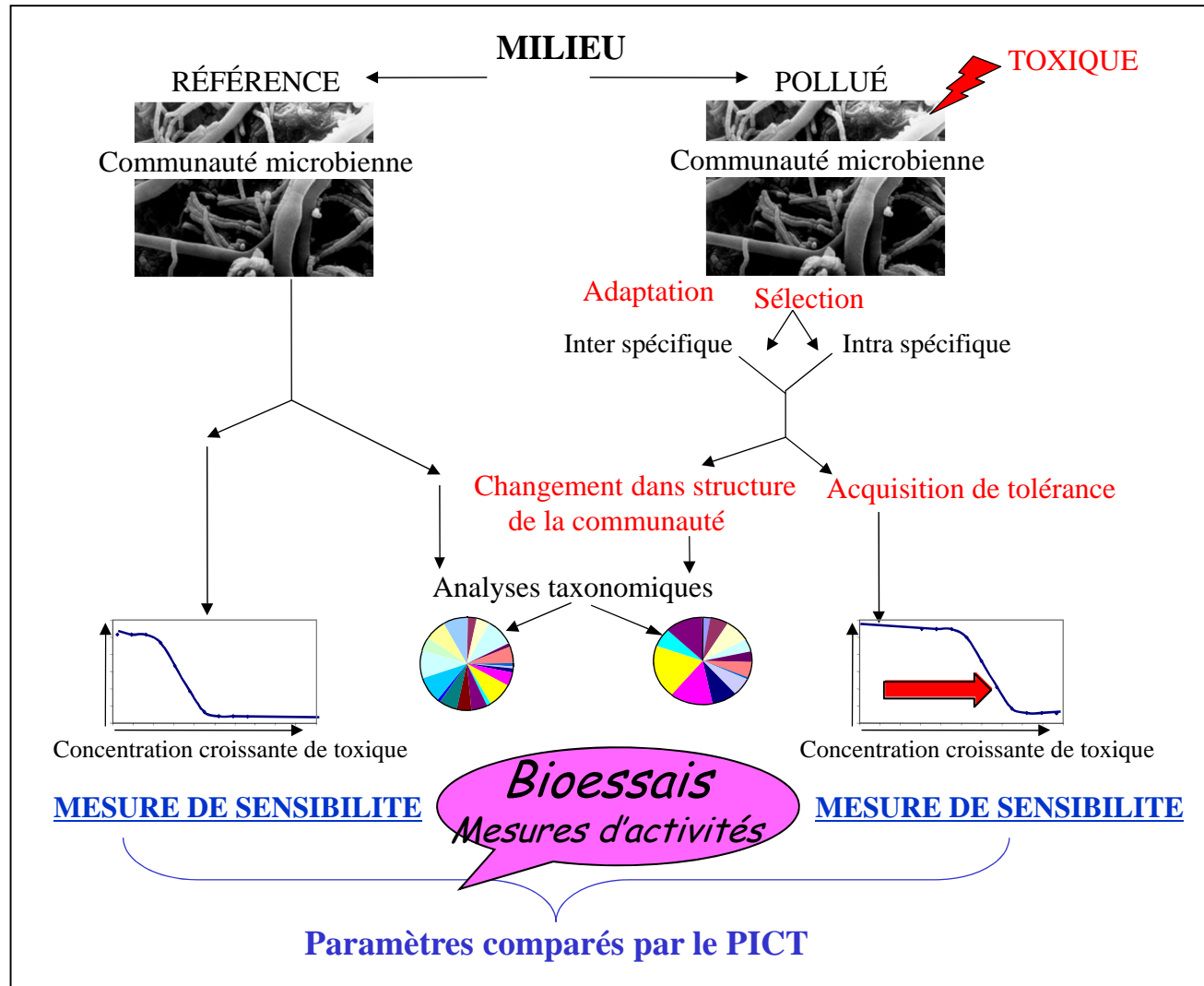
Concrètement :

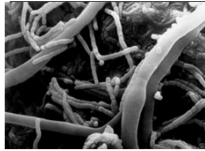




# Pollution Induced Community Tolerance

Concrètement :





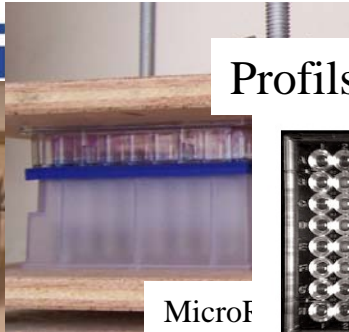
# PICT : Pollution-Induced Community Tolerance

Écologiquement Significatif  
Rapide  
Caractérise globalement la communauté étudiée

## Quels outils pour les bioessais?

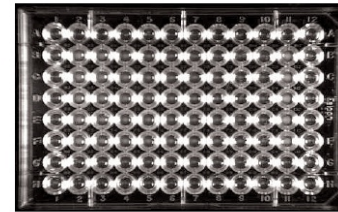


BIOLOG



Profils cataboliques

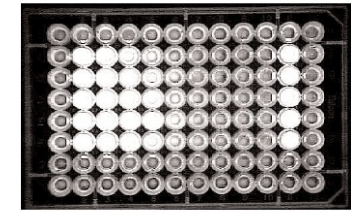
MicroF



BD™ Oxygen Biosensor System

Excitation  
at 485 nm

Emission at  
590-630 nm



Incorporation de radioéléments  
 $C^{14}$ , Leu,  $Th^3$ ,  
acetate-ergosterol...



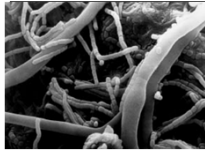
Fluorescence *in vivo*



Mesures de respiration par  
analyse des gaz

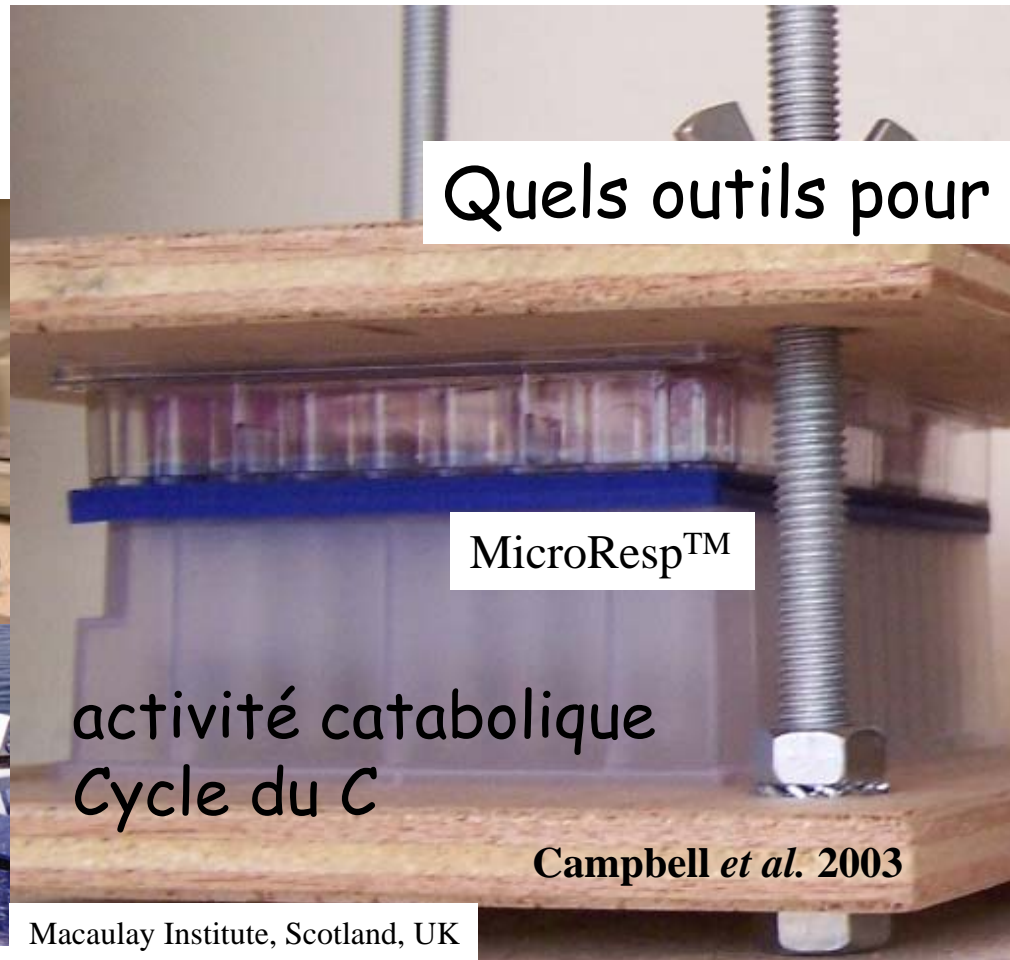






# PICT : Pollution-Induced Community Tolerance

## Quels outils pour les bioessais?



MicroResp™

activité catabolique  
Cycle du C

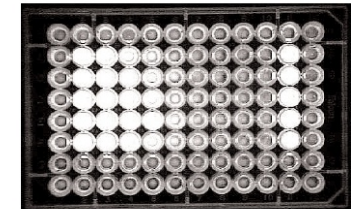
Campbell *et al.* 2003

Macaulay Institute, Scotland, UK

BD™ Oxygen Biosensor System

Excitation at 630 nm

Emission at 680 nm

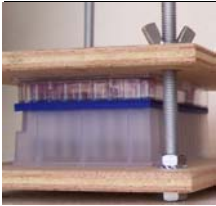


mesure de respiration par  
analyse des gaz

Incorporation de radioéléments  
C<sup>14</sup>, Leu, Th<sup>3</sup>,  
acetate-ergosterol...







## Application à des sols contaminés par des métaux lourds

### Expérimentation long-terme en en placettes d'amendement de sols avec boues de STEP d'usine



Prélèvements sol 0-10 cm

Tamisage 0-2 mm

Préincubation 50% WHC, 6 jours

2 références (prairie) REF

3 placettes « témoin » C

3 placettes « 10 ppm » B10

3 placettes « 100 ppm » B100

Analyses métaux dans les sols et autres (chimie, biologie..)



### *Caractérisation des communautés microbiennes :*

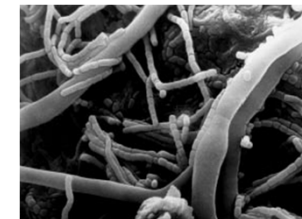
**Biomasse active** (SIR Glucose)

Respiration basale

Profil catabolique CLPP (11 substrats carbonés)

Quotient métabolique  $q\text{CO}_2$  (RB/SIR)

Courbes dose/réponse de la respiration induite par le Glu au Cd ( $\text{CE}_{50_{\text{Cd}}}$ )





## Application à des sols contaminés par des métaux lourds

Expérimentation long-terme en en placettes

d'amendement de sols avec boues de STEP d'usine



Prélèvements sol 0-10 cm

Tamisage 0-2 mm

Préincubation 50% WHC, 6 jours

2 références (prairie) REF

3 placettes « témoin » C

3 placettes « 10 ppm » B10

3 placettes « 100 ppm » B100

Analyses métaux dans les sols

### *Caractérisation des communautés microbiennes :*

Biomasse (SIR Glucose)

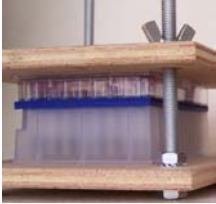
Respiration basale

**Profil catabolique CLPP (11 substrats carbonés)**

Quotient métabolique  $q\text{CO}_2$  (RB/SIR)

Courbes dose/réponse de la respiration induite par le Glu au Cd ( $\text{CE}_{50_{\text{Cd}}}$ )

**Diversité fonctionnelle**



## Application à des sols contaminés par des métaux lourds

Expérimentation long-terme en en placettes

d'amendement de sols avec boues de STEP d'usine



Prélèvements sol 0-10 cm

Tamisage 0-2 mm

Préincubation 50% WHC, 6 jours

2 références (prairie) REF

3 placettes « témoin » C

3 placettes « 10 ppm » B10

3 placettes « 100 ppm » B100

Analyses métaux dans les sols

### *Caractérisation des communautés microbiennes :*

Biomasse (SIR Glucose)

**Respiration basale**

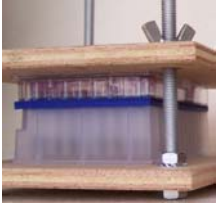
Profil catabolique CLPP (11 substrats carbonés)

**Quotient métabolique  $q\text{CO}_2$  (RB/biomasse mic)**

Courbes dose/réponse de la respiration induite par le Glu au Cd ( $\text{CE}_{50_{\text{Cd}}}$ )

Traits physiologiques





## Application à des sols contaminés par des métaux lourds

Expérimentation long-terme en en placettes

d'amendement de sols avec boues de STEP d'usine



Prélèvements sol 0-10 cm

Tamisage 0-2 mm

Préincubation 50% WHC, 6 jours

2 références (prairie) REF

3 placettes « témoin » C

3 placettes « 10 ppm » B10

3 placettes « 100 ppm » B100

Analyses métaux dans les sols

### *Caractérisation des communautés microbiennes :*

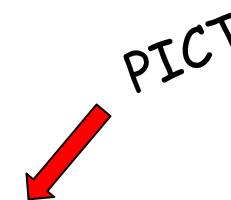
Biomasse (SIR Glucose)

Respiration basale

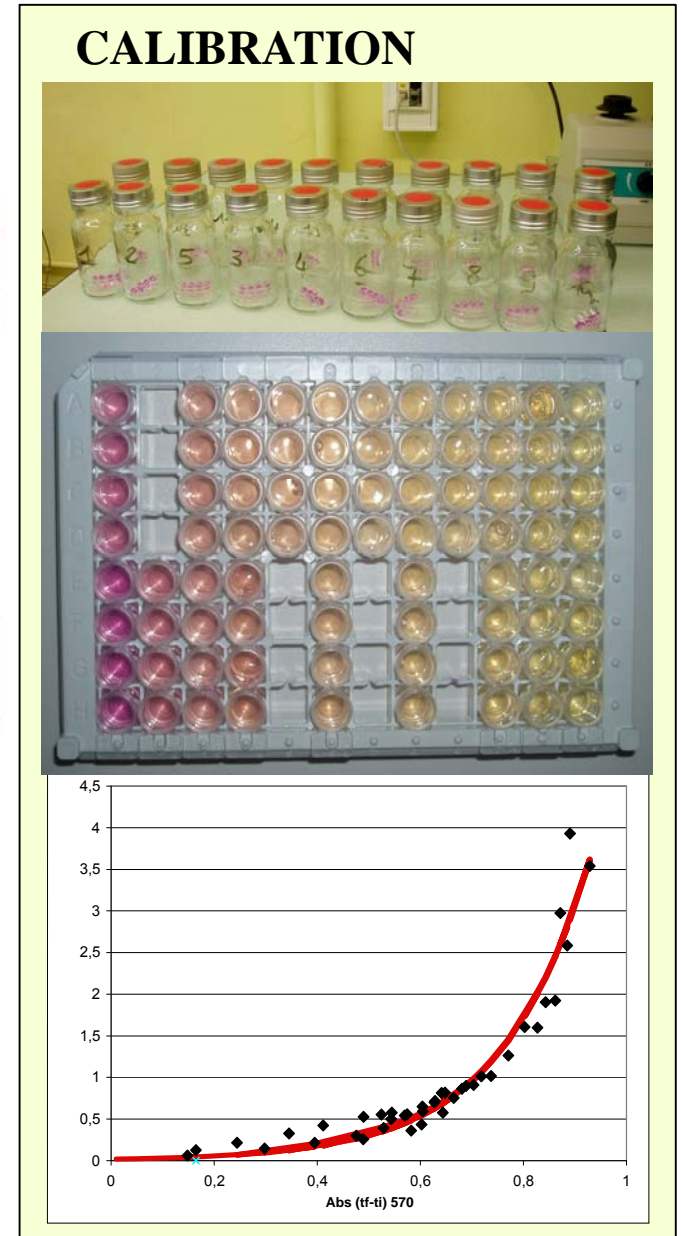
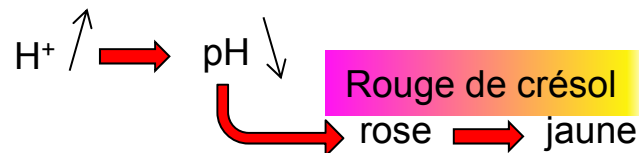
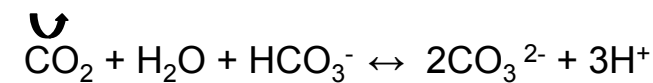
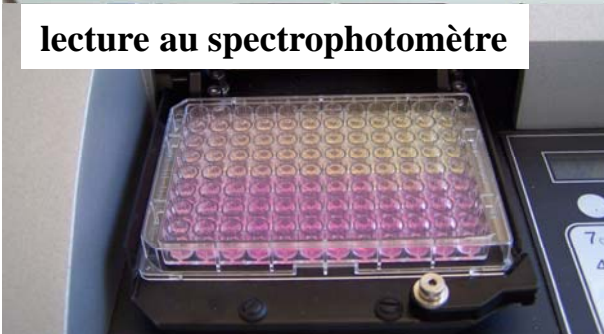
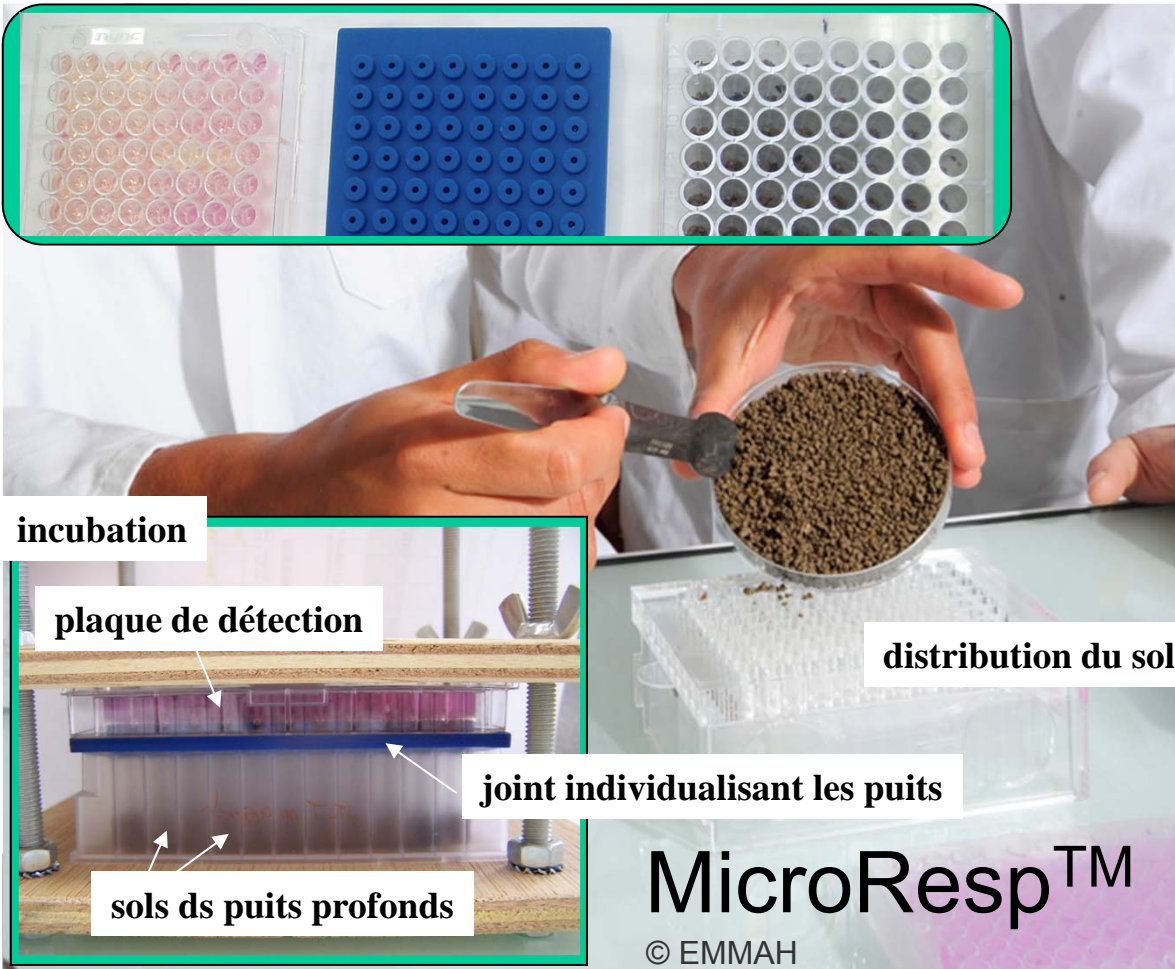
Profil catabolique CLPP (11 substrats carbonés)

Quotient métabolique  $q\text{CO}_2$  (RB/SIR)

**Courbes dose/réponse de la respiration induite par le Glu au Cd ( $\text{CE}_{50_{\text{Cd}}}$ )** 12

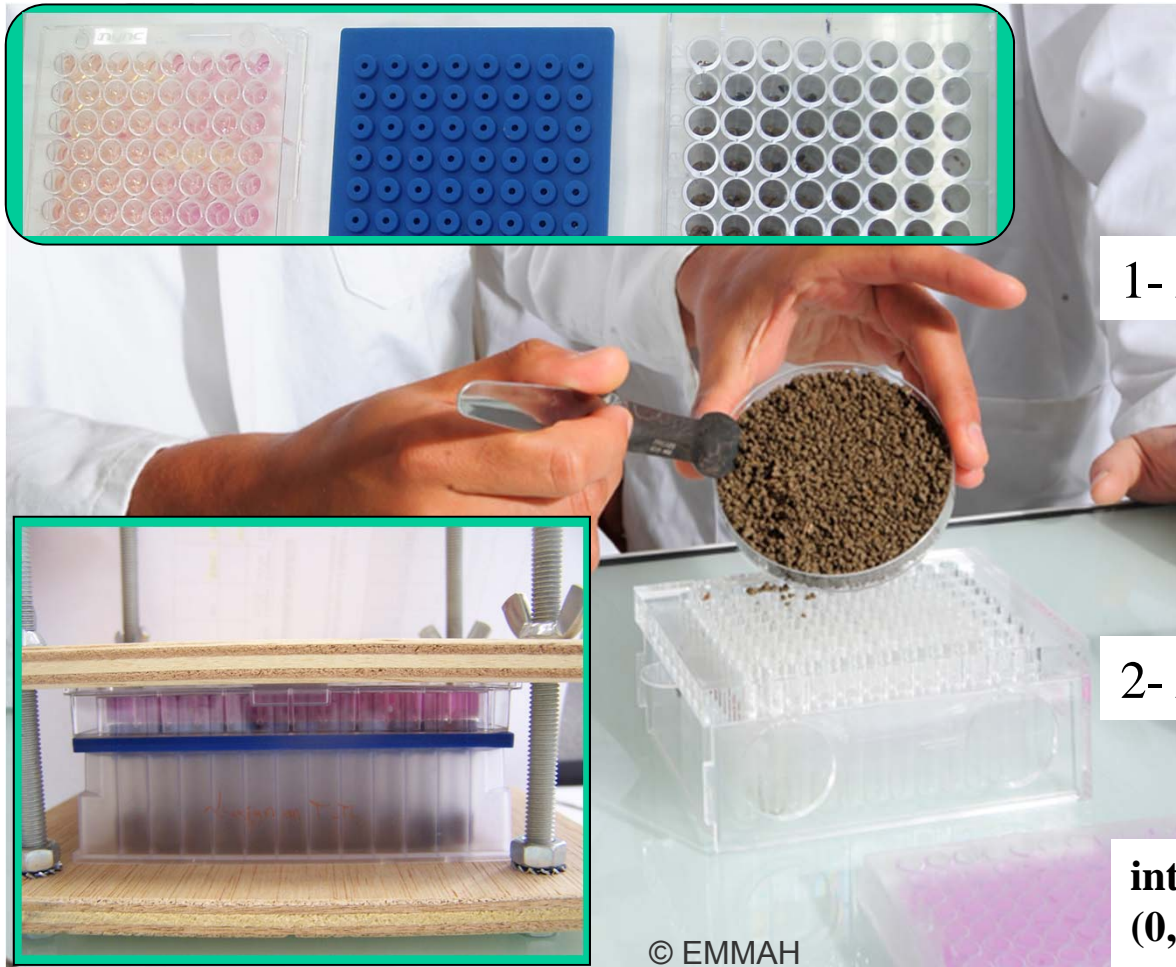


# La respiration induite par substrats carbonés



Campbell *et al.* 2003





## 2 types de bio-essais réalisés

1- Avec 11 substrats carbonés et eau



Biomasse microbienne  
Profils cataboliques (CLPP)  
Traits physiologiques

2- Avec glucose et 8 concentrations de Cd



PICT

**introduction de concentrations croissantes en Cd  
(0, 52 à 3372  $\mu\text{g Cd}^{2+}/\text{g sol}$ )**

**distribution du sol**

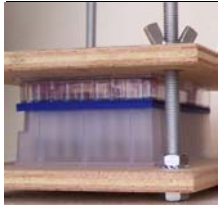
**préincubation 15 heures (22 ° C, obscurité)**

**introduction du Glucose ( 25  $\mu\text{l}$ , 30mg/g eau de sol)**

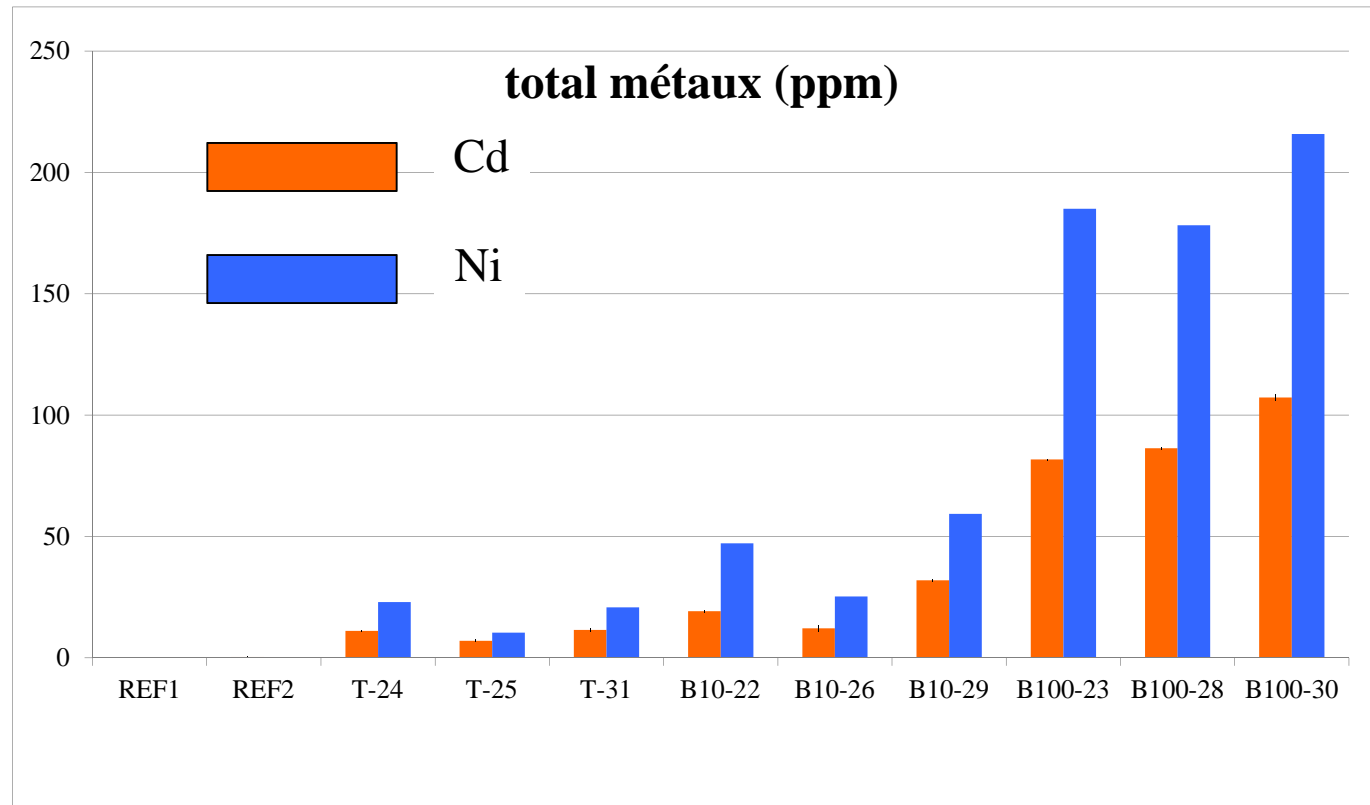
**incubation 6 heures (22 ° C, obscurité)**

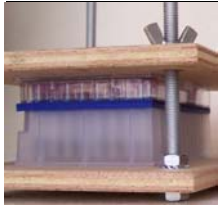
# MicroResp™



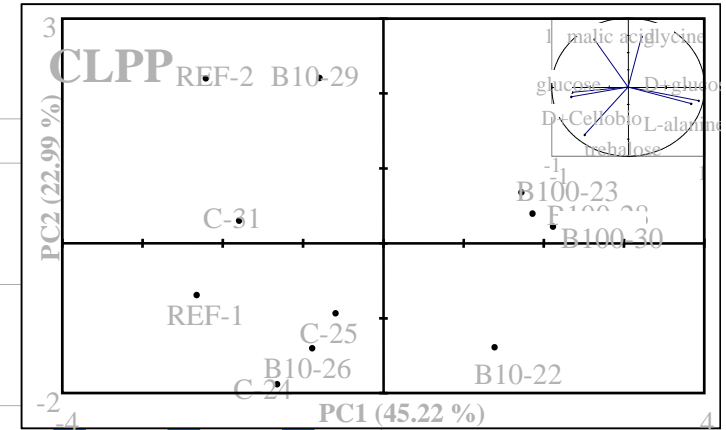
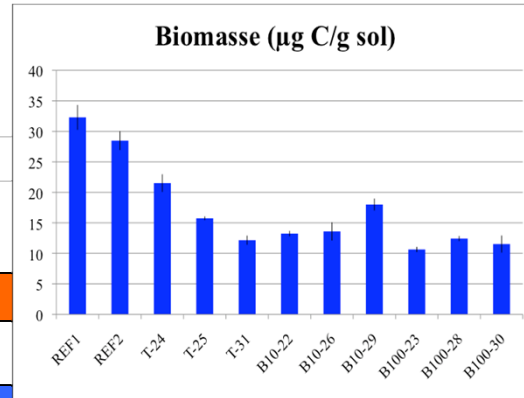
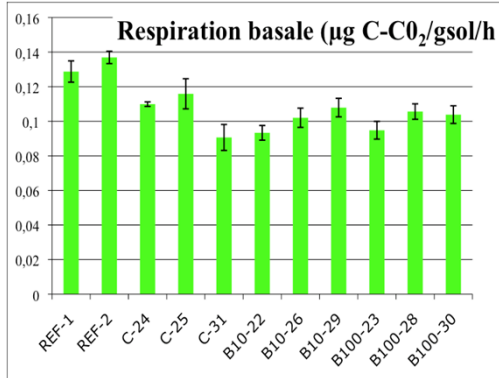


# *résultats*

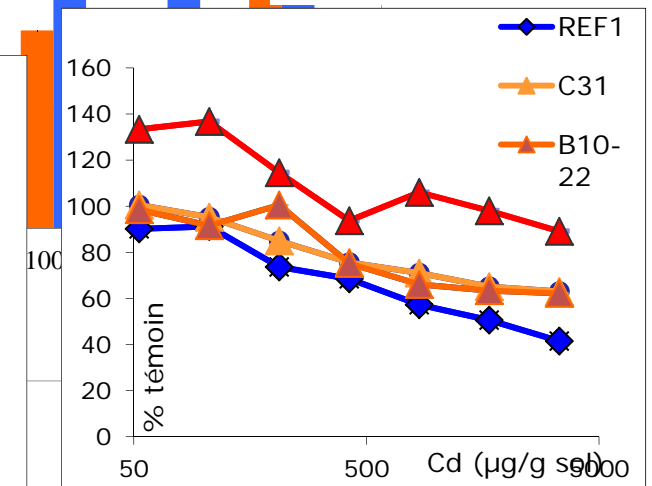
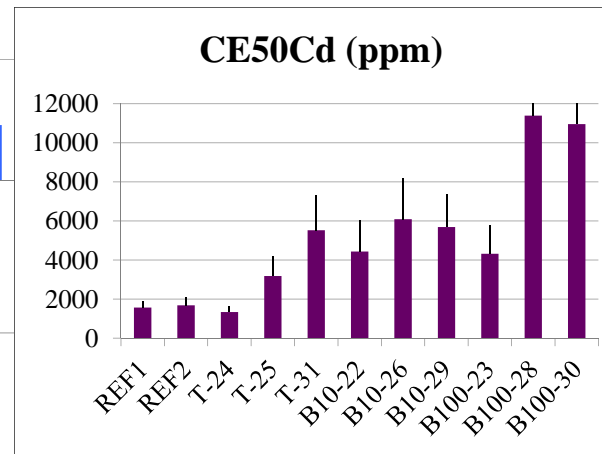
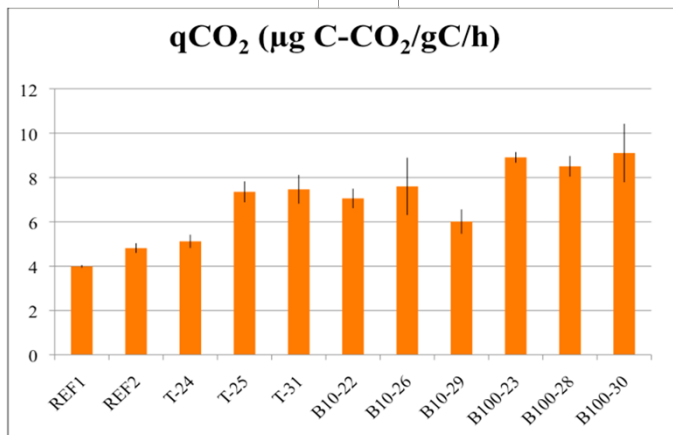




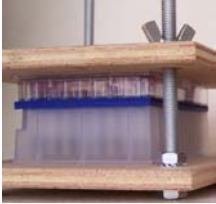
# résultats



## Courbes dose/réponse

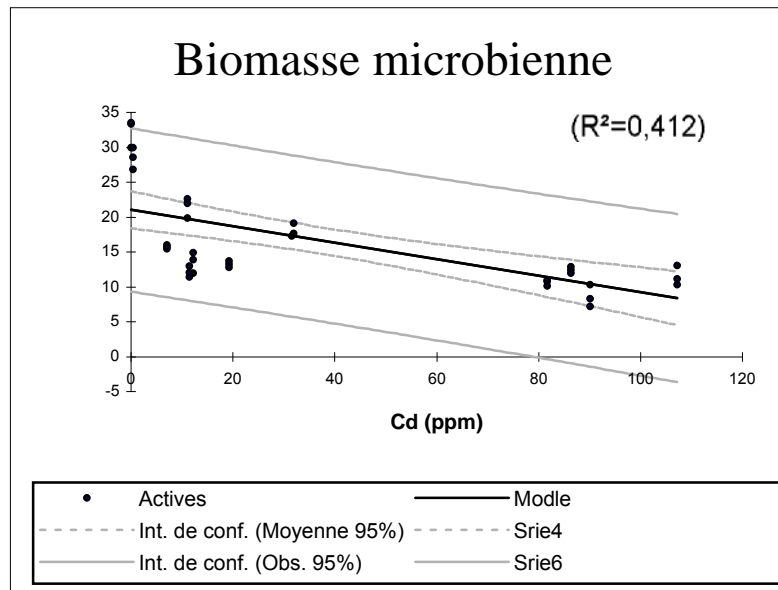


méthode assez peu sensible dans l'absolu, mais discriminante par comparaison (Witter *et al.* 2000, CE50<sub>Cd</sub> → 600 ppm)

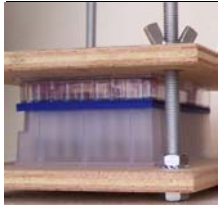


# résultats

## Influence du Cd

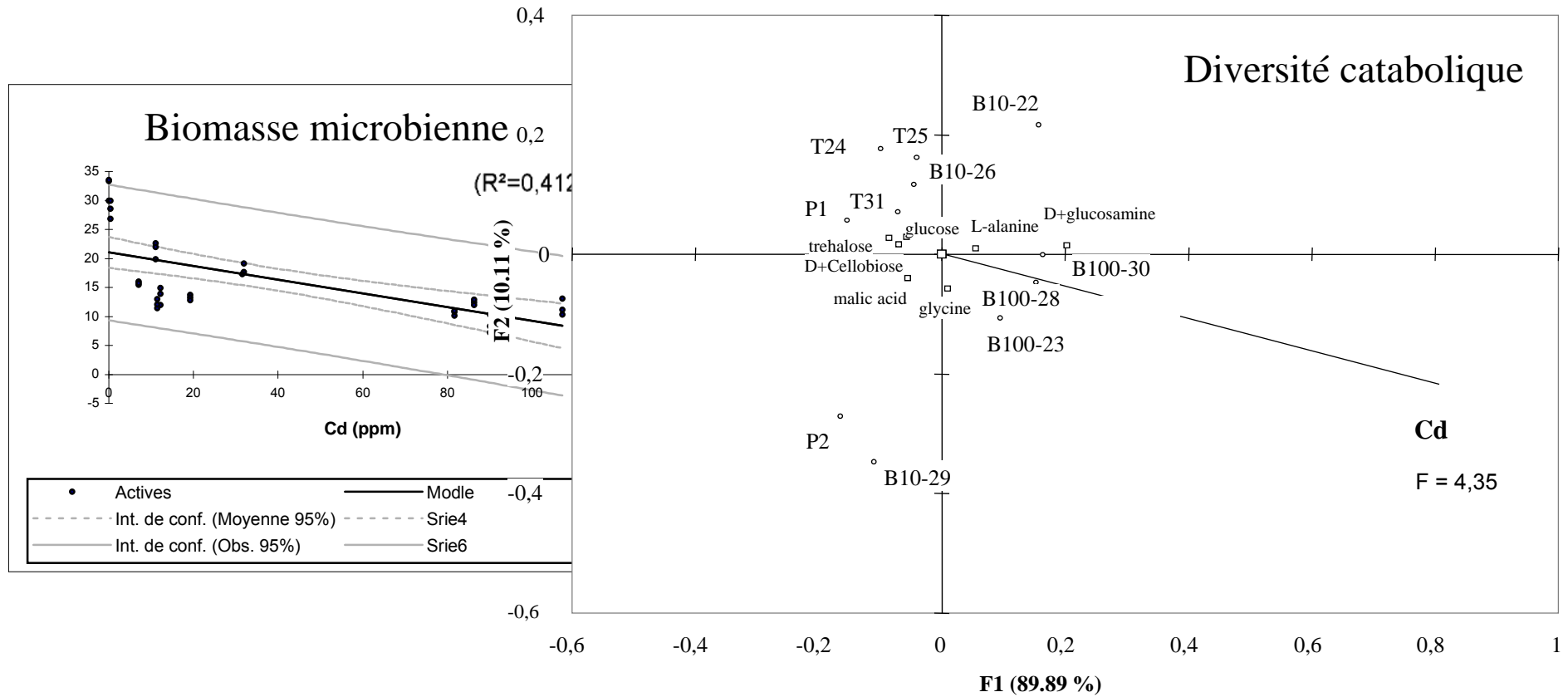






# résultats

## Influence du Cd

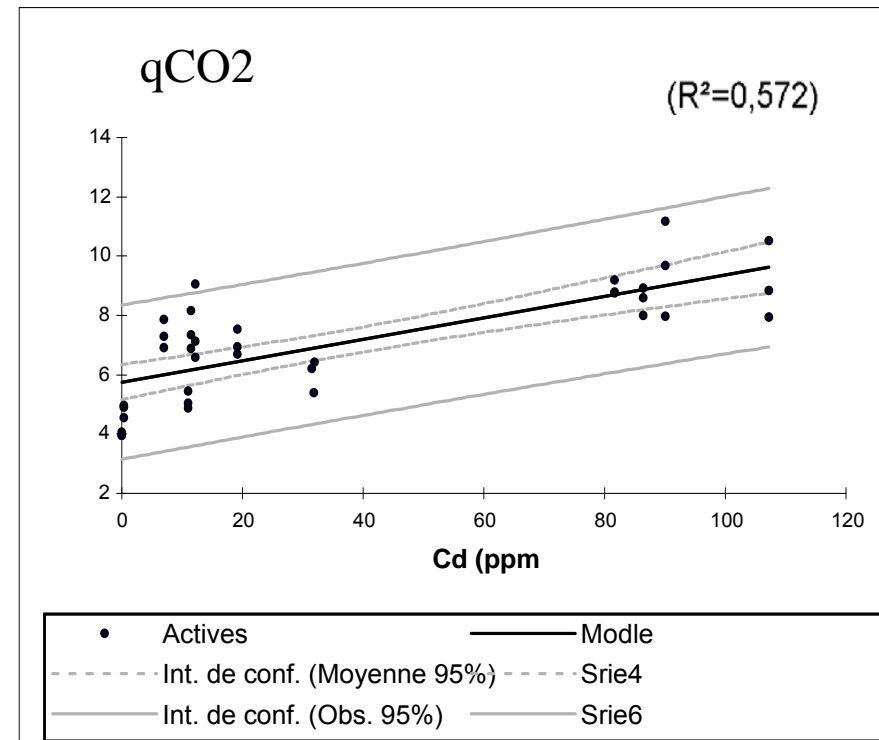
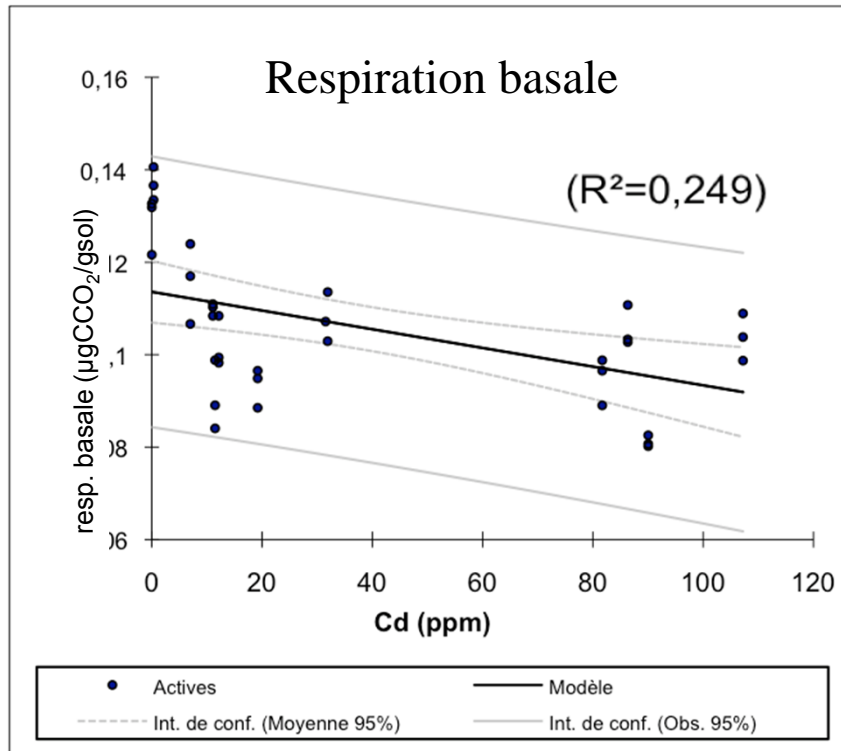


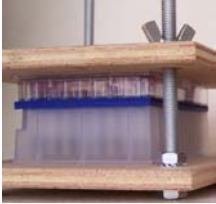
Analyse de redondance (RDA) réalisée sur les CLPP



# résultats

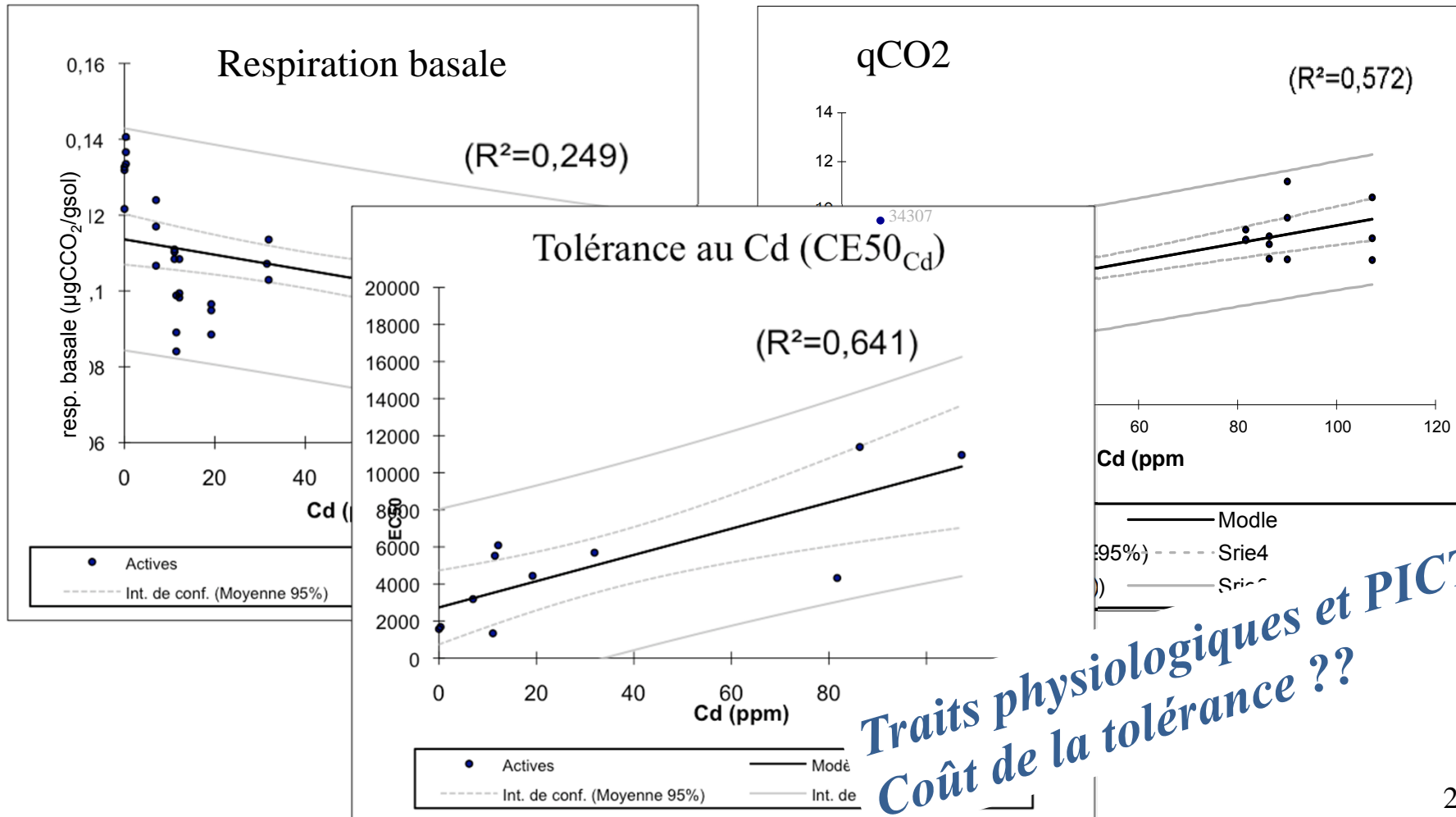
## Influence du Cd



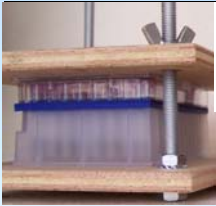


# résultats

## Influence du Cd



**Traits physiologiques et PICT ...**  
**Coût de la tolérance ??**



## conclusions

Pour caractériser les communautés microbiennes des milieux contaminés

## Le MicroResp™ avec son application PICT

un outil multi infos, simple, économique, peu polluant

traiter de nombreux échantillons, adaptable au terrain

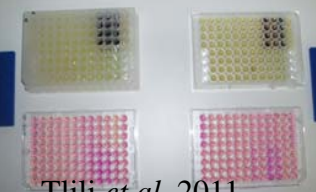
## Reste à ....

Clarifier certains artefacts liés à l'accumulation ou dégagement de  $CO_2$  non biologique (en cours)

Appliquer la méthode à d'autres contaminants (sources de carbone ?)

Valider la méthode en études inter-laboratoires

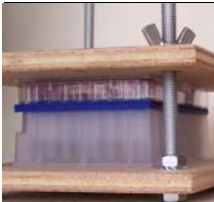
Biofilms de rivière



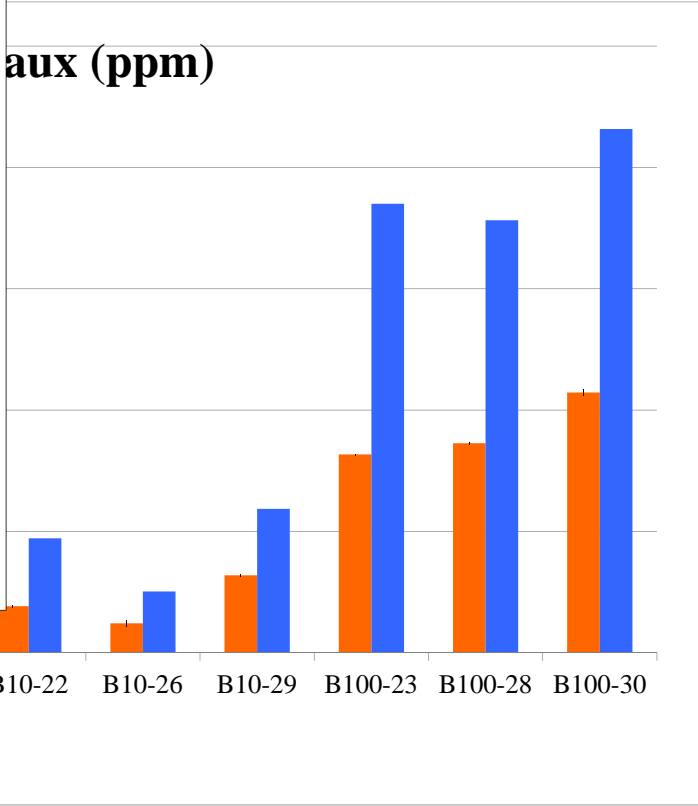
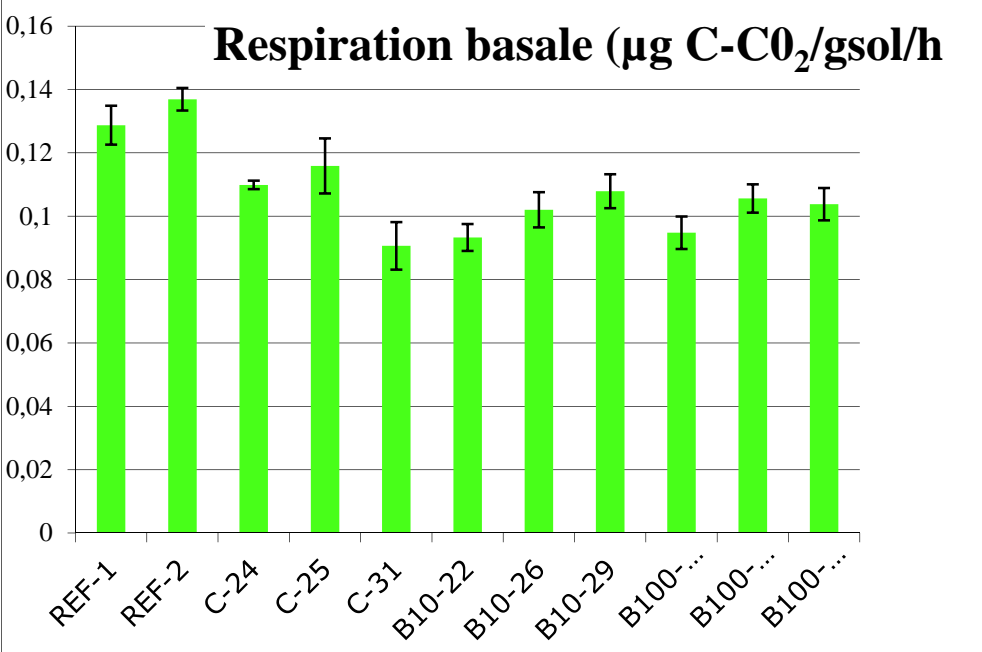
Tlili *et al.* 2011

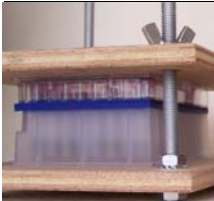




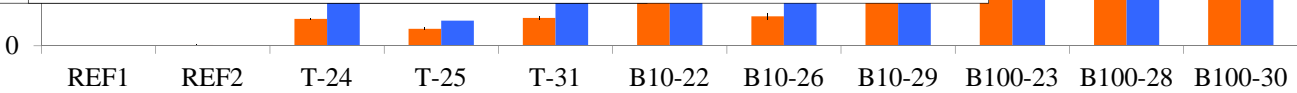
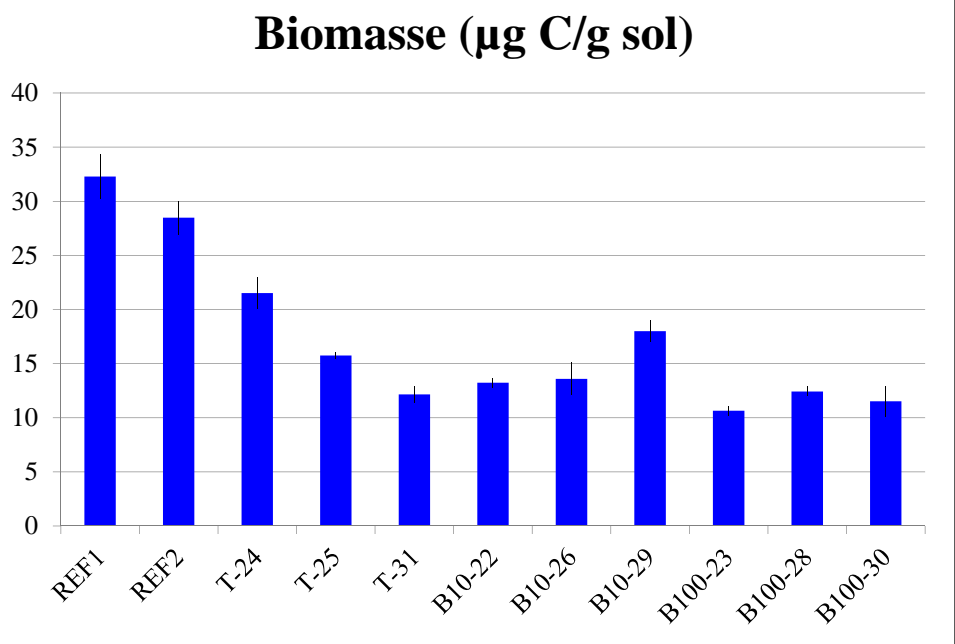
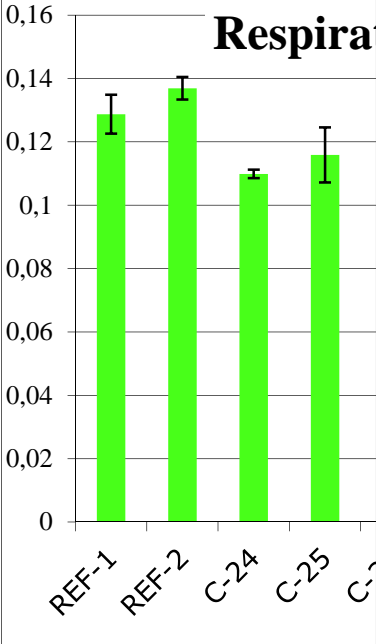


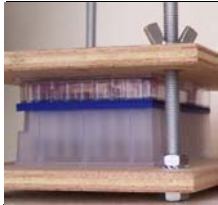
# résultats



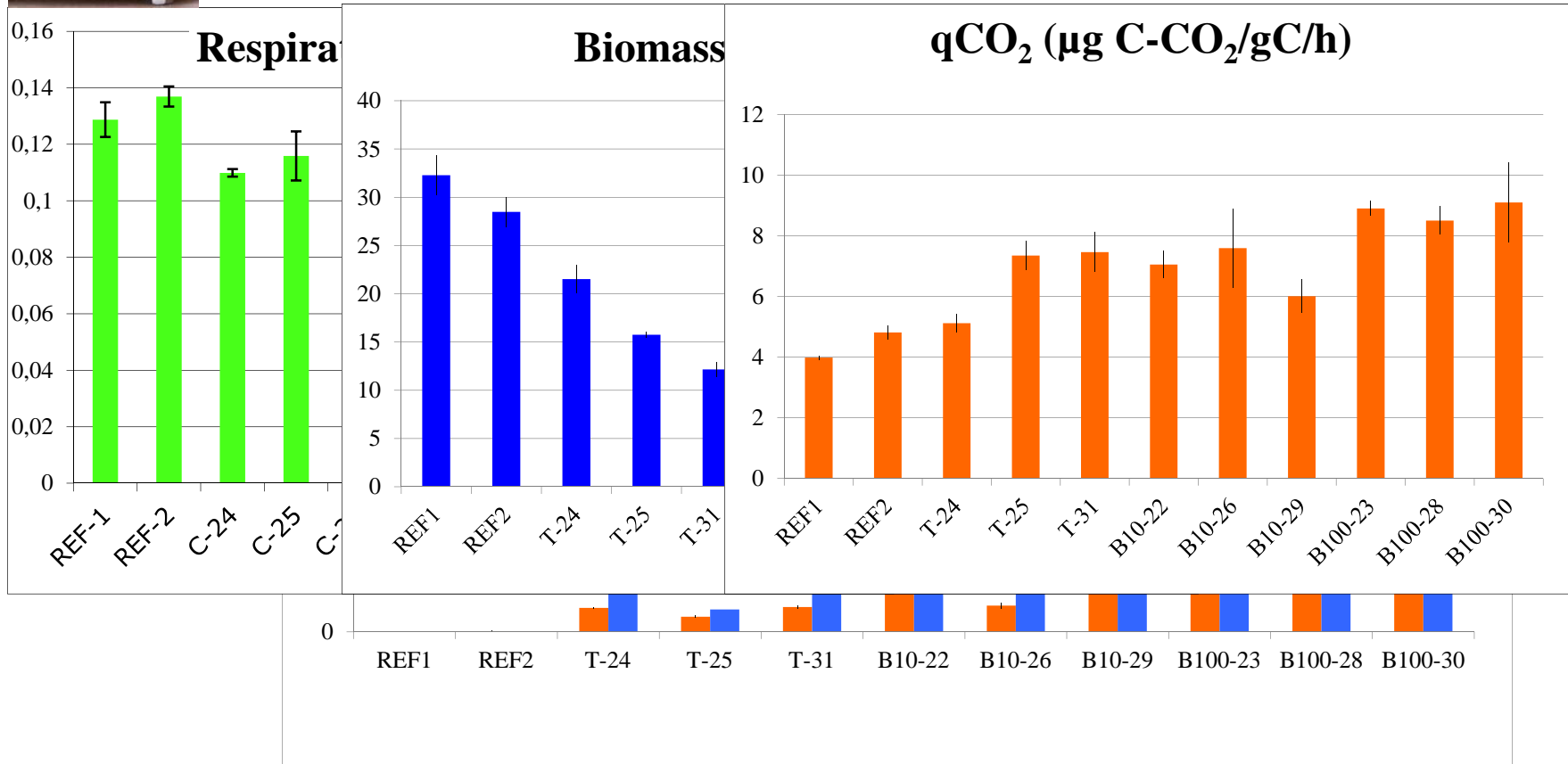


# résultats





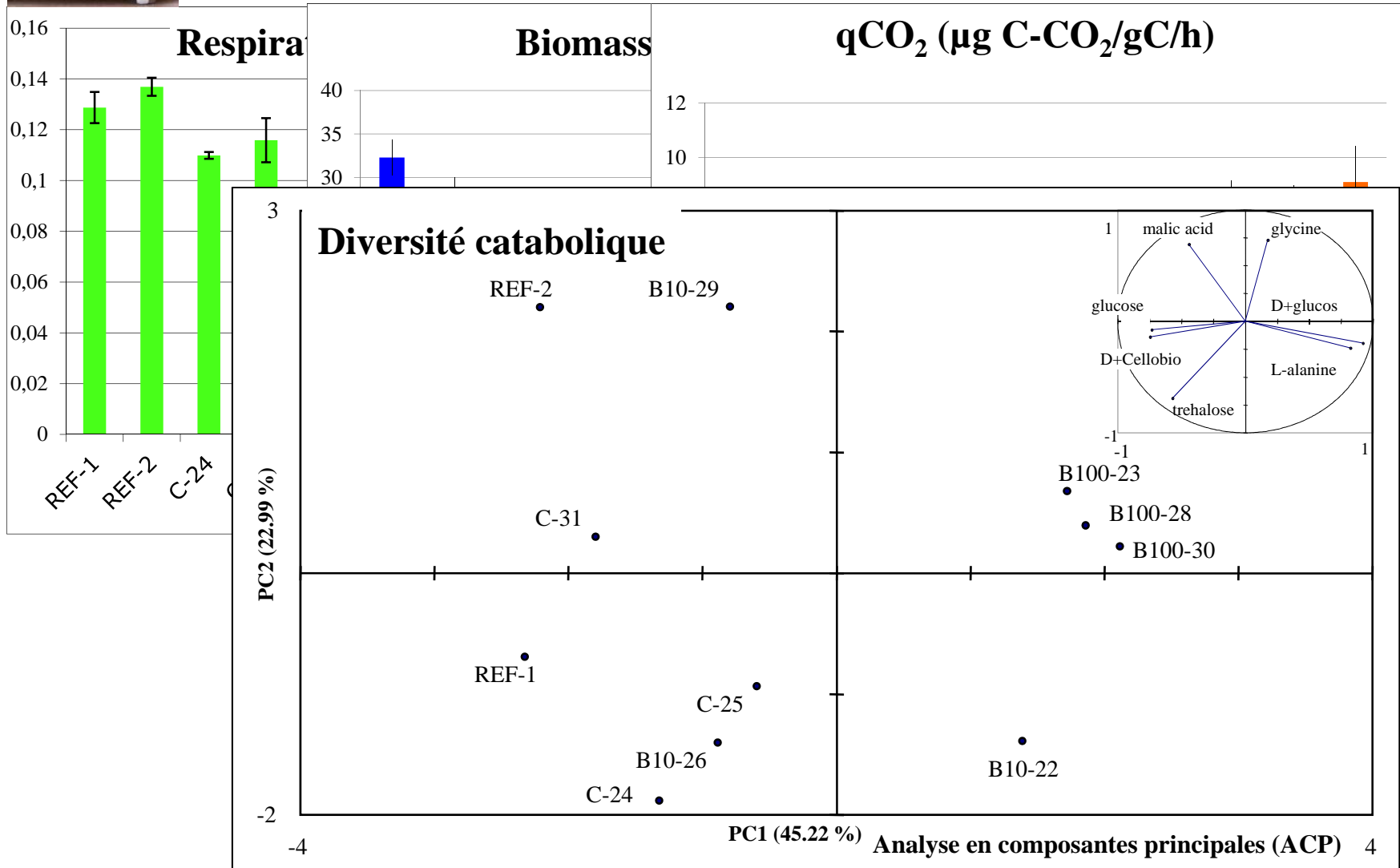
# résultats

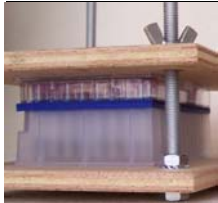




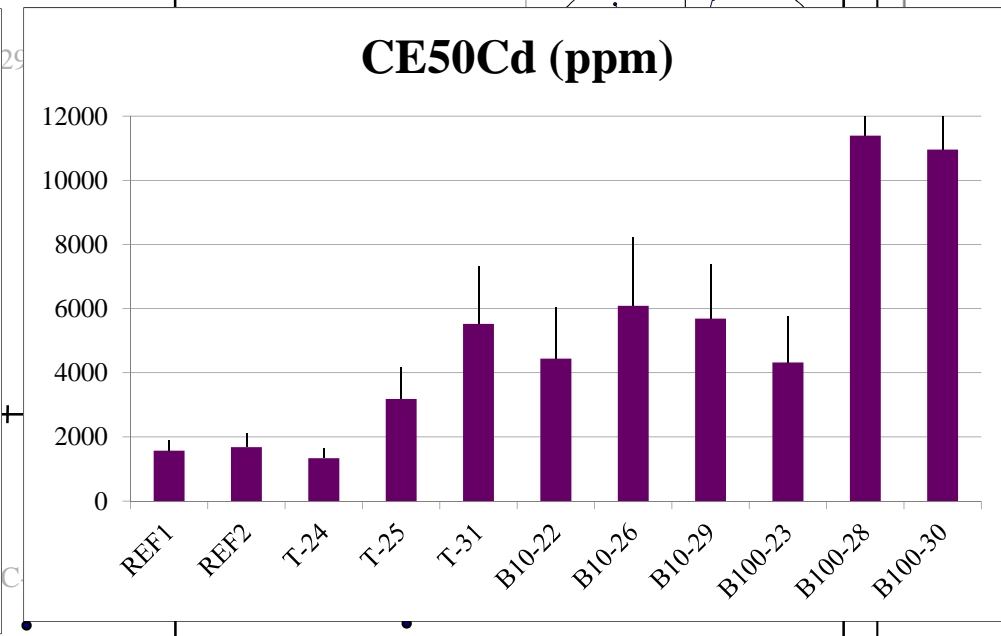
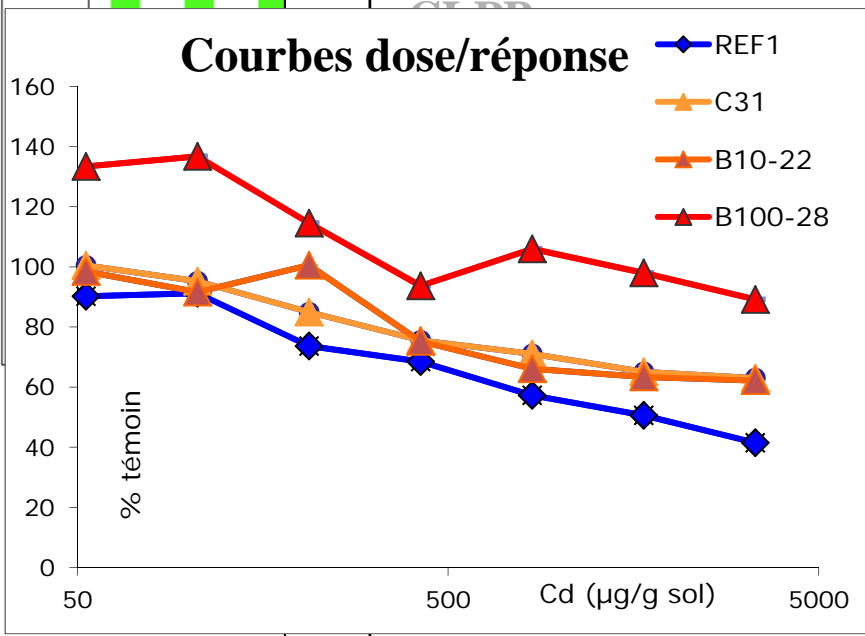
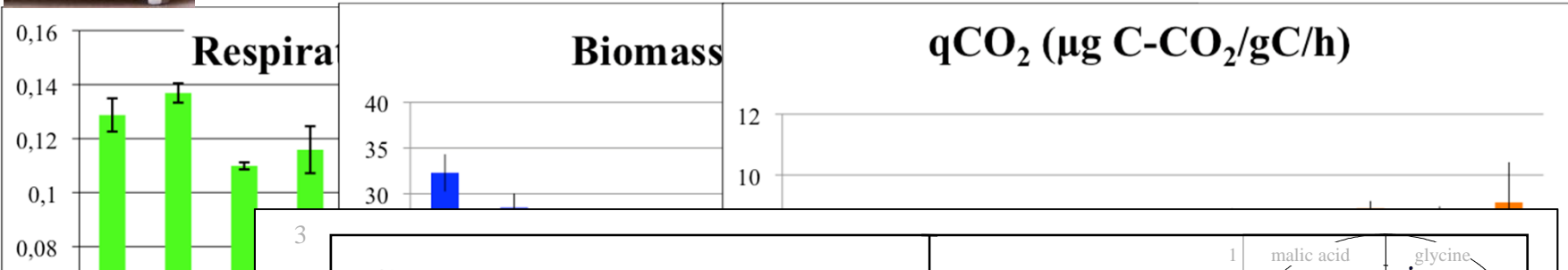


# résultats





# résultats



B10-26  
C-24  
-2

méthode assez peu sensible dans l'absolu, mais discriminante par comparaison (Witter *et al.* 2000, CE50<sub>Cd</sub> → 600 ppm)

4