

---

# Le programme ADEME

## “Bioindicateurs de qualité des sols” :

### Vers le développement et la validation d’indicateurs biologiques pour la protection des sols

A. Bispo, C. Grand et L. Galsomies

ADEME (Agence de l’Environnement et de la Maîtrise de l’Energie) 20, Avenue du Grésillé BP 90406 49004 Angers Cedex 01, France

#### RÉSUMÉ

Le sol est une ressource essentielle pour les sociétés humaines et les écosystèmes qu’il convient de protéger compte tenu des dégradations croissantes liées notamment à la croissance démographique (besoins alimentaires, besoins de logements et d’infrastructures) ou aux pollutions (ponctuelles ou d’origine atmosphérique). Pour mettre en place, suivre et assurer les actions de protection et de gestion, il convient de définir des indicateurs qui permettent d’identifier et de quantifier les perturbations, les transformations du sol et les impacts sur les écosystèmes. Le programme national ADEME « Bioindicateurs de Qualité des Sols », initié en 2004, vise à développer les recherches sur la composante biologique des sols afin de définir des indicateurs de qualité des sols pour compléter les outils physico-chimiques déjà disponibles. Ce programme, séquencé en 2 phases, réunit un ensemble de laboratoires travaillant sur des indicateurs biologiques très divers (ex : diversité bactérienne, activités enzymatiques, dosage des métaux dans les tissus végétaux ou animaux, composition des communautés des invertébrés du sol). La première phase, terminée en 2008 et dont ce numéro spécial regroupe les principaux résultats, a permis d’évaluer et de tester un ensemble de 80 bioindicateurs dans différentes situations. Les indicateurs jugés les plus pertinents ont été retenus pour être calibrés et comparés sur des sites ateliers communs, sélectionnés en fonction de différents usages de sol (ex : agricole, urbain, forestier) et de problématiques environnementales (ex : pratiques agricoles, épandage de déchets, sites contaminés). La seconde phase, initiée en 2009, doit ainsi permettre de calibrer, de valider et de comparer les bioindicateurs mais également d’initier la création d’un premier référentiel national. Ces nouveaux outils, susceptibles de détecter des évolutions précoces, devront notamment permettre de surveiller l’évolution de la qualité des sols et d’évaluer les risques pour les écosystèmes. Parallèlement, ce programme permet une meilleure compréhension de la biodiversité des sols et des services écosystémiques rendus.

#### Mots clés

Sol, Indicateur, bioindicateur, qualité, biodiversité, écosystème.

## SUMMARY

### FROM THE DEVELOPMENT TO THE SELECTION OF SOIL BIOINDICATORS FOR SOIL PROTECTION

Soil can be considered as a non-renewable resource that must be protected because it is essential to our economic activities (it provides us with food, drinking water, biomass and raw materials) and its degradation is accelerating (erosion, contamination, compaction). Protecting and managing soils will require a set of indicators able to judge about degradation and/or remediation of its properties and functions. Considering the lack of biological indicators (bioindicators) to describe the status of soil the French Environment and Energy Management Agency (ADEME) launched in 2004 a national research programme to develop and test such indicators. The main objectives were to (i) develop methods for measuring soil biodiversity and soil functions, (ii) use soil bioindicators to monitor soil quality and (iii) identify relevant bioindicators or endpoints for ecological risk assessment of soil contamination (figure 1). Research within this programme was organized in 2 steps (figure 2) where the first one, finished in 2008 and summarized in this special issue, aimed to develop and test several bioindicators based on the following biological organisms:

- Bacteria and fungi (indicators based on the diversity and activity),
- Collembola and Nematodes (indicators based on the diversity),
- Earthworms and total macrofauna (indicators based on the diversity, activity, bioaccumulation and biomarkers),
- Snails (indicators based on the bioaccumulation),
- Birds and micromammals (indicators based on bioaccumulation and biomarkers)
- Plants (indicators based on the diversity, bioaccumulation and biomarkers).

Bioindicators were tested in different situations combining different soil types, landuses and practices: forest soils, organic farming, pastures, contaminated sites, remediated soils. Investigation scales varied from mesocosms and field samples to regional (e.g. landscape sampling) and even national sampling campaigns (e.g. based on the French national monitoring network). Based on the results obtained by all research teams (table 1) and on a multivariate analysis it was possible to select indicators (tables 2 to 4) relevant for our main objectives (i.e soil monitoring and ecological risk assessment of contaminants). Those are now being tested on common pilot sites (table 5) varying in soil types, soil contamination and landuse. This 2nd step started in 2009 should allow us to calibrate, validate and compare the selected bioindicators. It will also initiate the development of a national reference database. The data mining of the results will select relevant bioindicators able either to monitor soil quality and to assess risks to ecosystems due to soil contamination. In parallel, this program provides a better understanding of soil biodiversity and related ecosystem services.

#### Key-words

Soil, indicators, bioindicators, quality, biodiversity, ecosystem.

## RESUMEN

### EL PROGRAMA ADEME "BIOINDICADORES DE LA CALIDAD DE LOS SUELOS": hacia el desarrollo y la validación de indicadores biológicos para la protección de los suelos

El suelo está un recurso esencial para las sociedades humanas y los ecosistemas que se necesita proteger teniendo en cuenta las degradaciones crecientes ligadas en particular al crecimiento demográfico (necesidades alimenticias, necesidades de habitaciones y de infraestructuras) o a las contaminaciones (puntuales o de origen atmosféricas). Para poner en lugar, seguir y asumir las acciones de protección y de gestión, conviene definir indicadores que permiten identificar y cuantificar las perturbaciones del suelo y los impactos sobre los ecosistemas. El programa nacional ADEME "Bioindicadores de la Calidad de los Suelos", empezado en 2004, tiene como objeto de desarrollar las investigaciones sobre el componente biológico de los suelos con el fin de definir indicadores de la calidad de los suelos para completar las herramientas físico-químicas ya disponibles. Este programa, secuenciado en dos fases, reúne un conjunto de laboratorios que trabajan sobre indicadores biológicos muy diversos (ej.: diversidad bacteriana, actividades enzimáticas, dosificación de los metales en los tejidos vegetales o animales, composición de las comunidades de los invertebrados del suelo). La primera fase, terminada en 2008 y cuyo este número especial agrupa los principales resultados, permitió evaluar y testar un conjunto de 80 bioindicadores en diferentes situaciones. Se retuvieron los indicadores jugados los más pertinentes para estar calibrados y comparados en lugares talleres comunes, seleccionados en función de diferentes usos del suelo (ej.: agrícola, urbano, forestal) y de problemáticas ambientales (ej: practicas agrícolas, esparcimiento de desechos, sitios contaminados). La segunda fase, empezada en 2009, debe también permitir calibrar, validar y comparar los bioindicadores pero igualmente empezar la creación de un primer referencial nacional. Estas nuevas herramientas, susceptibles de detectar evoluciones precoces, deberán en particular permitir vigilar la evolución de la calidad de los suelos y evaluar los riesgos para los ecosistemas. Paralelamente, este programa permite una mejor comprensión de la biodiversidad de los suelos y de los servicios ecosistémicos atendido.

#### Palabras clave

Suelo, indicadores, bioindicadores, biodiversidad, ecosistema.

Le sol est une ressource essentielle pour les sociétés humaines et les écosystèmes. N'étant pas une ressource renouvelable à notre échelle de temps humaine et étant soumis à des pressions de plus en plus importantes (ex : production agricole et forestière, développement urbain et industriel, réseaux de transport...) et à des dégradations (ex : érosion, contaminations ponctuelles et diffuses d'origine atmosphériques, tassement), il est désormais nécessaire d'en assurer la protection afin de permettre le développement durable des sociétés. Pour mettre en place, suivre et assurer les actions de protection et de gestion, il convient de définir des indicateurs qui permettent d'identifier et de quantifier les perturbations, les transformations du sol et les impacts sur les écosystèmes.

Les indicateurs classiquement utilisés reposent essentiellement sur des propriétés physiques et chimiques du sol alors que les paramètres biologiques intègrent l'ensemble des stress environnementaux (pollution chimique, état physique du sol, variations climatiques, modifications biologiques...) et renseignent sur l'état global du sol.

L'intérêt porté à la composante biologique des sols est légitime car elle est notamment responsable (Lavelle et Spain, 2001 ; Lavelle *et al.*, 2006) :

- de la formation et de l'entretien de la structure des sols (et donc indirectement, de la rétention en eau, du tassement, de l'érosion...),
- de la décomposition, de la transformation et du transport de la matière organique,
- du déroulement des cycles biogéochimiques (notamment des éléments nutritifs),
- du devenir des polluants organiques et métalliques du sol (fonction de filtre et de réacteur biologique) et du transfert de ces polluants dans les chaînes trophiques terrestres,
- du fonctionnement plus global des écosystèmes (ex : symbioses racinaires),
- de l'émission/séquestration de gaz à effet de serre ( $N_2O$ ,  $CO_2$ ,  $CH_4$ ).

Ces fonctions, connues depuis longtemps, sont réalisées par une multitude d'organismes interdépendants : une perturbation à un niveau peut dès lors engendrer des dommages à d'autres niveaux. Paradoxalement et bien que leurs rôles soient reconnus, l'identification et la mesure de ces fonctions ne sont que très peu étudiées. Ce constat a également été fait par la Commission Européenne puisque dans la stratégie thématique pour la protection des sols (CE, 2006), l'importance du sol en tant qu'habitat et que réserve de biodiversité y sont clairement identifiés sans qu'aucune mesure ne puisse être demandée aux Etats Membres compte tenu du manque d'indicateurs et de travaux de recherche.

Ainsi, des recherches sur la composante biologique des sols sont apparues nécessaires afin d'assurer le développement de bioindicateurs pour compléter le panel d'indicateurs disponibles et renseigner sur les modifications de l'état du sol liées à une perturbation/altération chimique et/ou physique du sol.

## LES BIOINDICATEURS

Si de nombreuses définitions existent (Pankhurst *et al.*, 1997 ; Markert *et al.*, 2003), dans le cadre de ce programme, un bioindicateur a été défini comme un organisme (ou une partie d'un organisme ou une communauté d'organismes) qui renseigne sur l'état et le fonctionnement d'un écosystème. Parmi les bioindicateurs, deux catégories ont été distinguées (figure 1) :

- bioindicateur d'accumulation : organisme (ou partie d'un organisme ou communauté d'organismes) qui accumule une ou plusieurs substances issues de son environnement, permettant ainsi d'évaluer son exposition.
- bioindicateur d'effet ou d'impact : organisme (ou partie d'un organisme ou communauté d'organismes) qui permet de révéler des effets spécifiques ou non lors de l'exposition à une ou plusieurs substances issues de son environnement (issues d'épandages de déchets, des pratiques agricoles, de dépôts atmosphériques ou bien de contaminations industrielles) ou à d'autres stress anthropiques ou naturels (ex : tassement, changement d'usage, statut de la matière organique). Ces effets, proportionnels ou non à l'exposition, incluent des modifications morphologiques, histologiques ou cellulaires, métaboliques, de comportement ou de structure de populations.

Certains indicateurs sont mieux adaptés que d'autres pour mettre en évidence des changements à long terme des écosystèmes (les modifications, adaptations de communautés peuvent parfois être très longues à se produire et se stabiliser). Au contraire, d'autres indicateurs biologiques tels que des modifications cellulaires ou métaboliques, permettent de détecter des effets précoces qui peuvent par la suite se transformer en atteintes irréversibles sur l'individu, la communauté ou l'écosystème. La détection de ce type d'effet permettrait de prévenir les risques à long terme (ex : effets chroniques, mutations).

Idéalement, les caractéristiques d'un bioindicateur doivent être les suivantes :

- être connu scientifiquement (sa biologie et son écologie doivent être maîtrisées : alimentation, voies d'exposition aux polluants, reproduction, place dans la chaîne trophique...),
- être lié ou corrélé à des fonctions de l'écosystème,
- intégrer des propriétés ou des processus physiques, chimiques et biologiques du sol,
- pouvoir rendre compte notamment des méthodes de gestion des sols et des différents types de pollution des sols,
- présenter des qualités de mesure (précision, fiabilité, robustesse),
- être validé (connaître l'amplitude des réponses liées aux variations naturelles),
- être facile à utiliser et peu cher (échantillonnage et détermination).

## OBJECTIFS GENERAUX ET ORGANISATION DU PROGRAMME

### Objectifs généraux

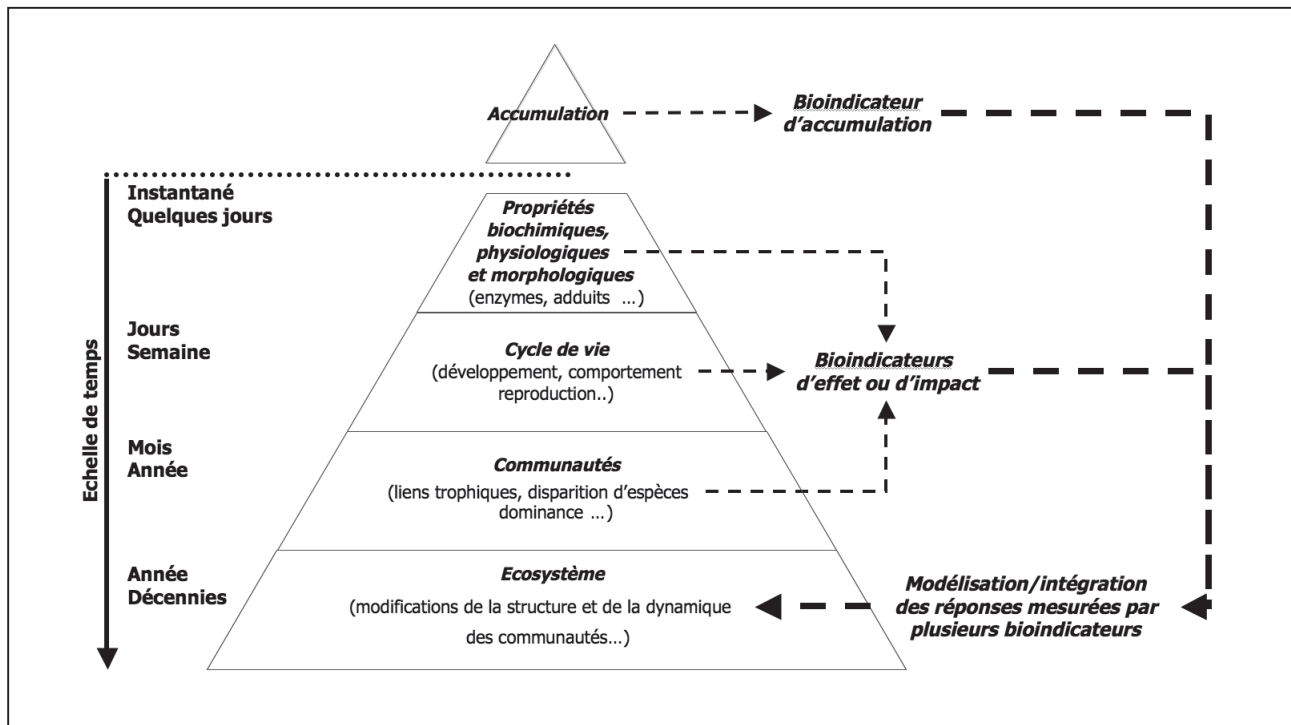
Les objectifs généraux du programme sont de fournir aux secteurs économiques et aux acteurs publics de nouveaux outils de surveillance, de caractérisation et d'évaluation des risques basés sur les propriétés biologiques du sol. L'ADEME étant notamment missionnée sur la prévention de la pollution des sols, la gestion des sites et sols pollués et l'évaluation des impacts environnementaux liés aux retombées atmosphériques et à la gestion biologique des déchets, elle a souhaité promouvoir le développement de bioindicateurs destinés à :

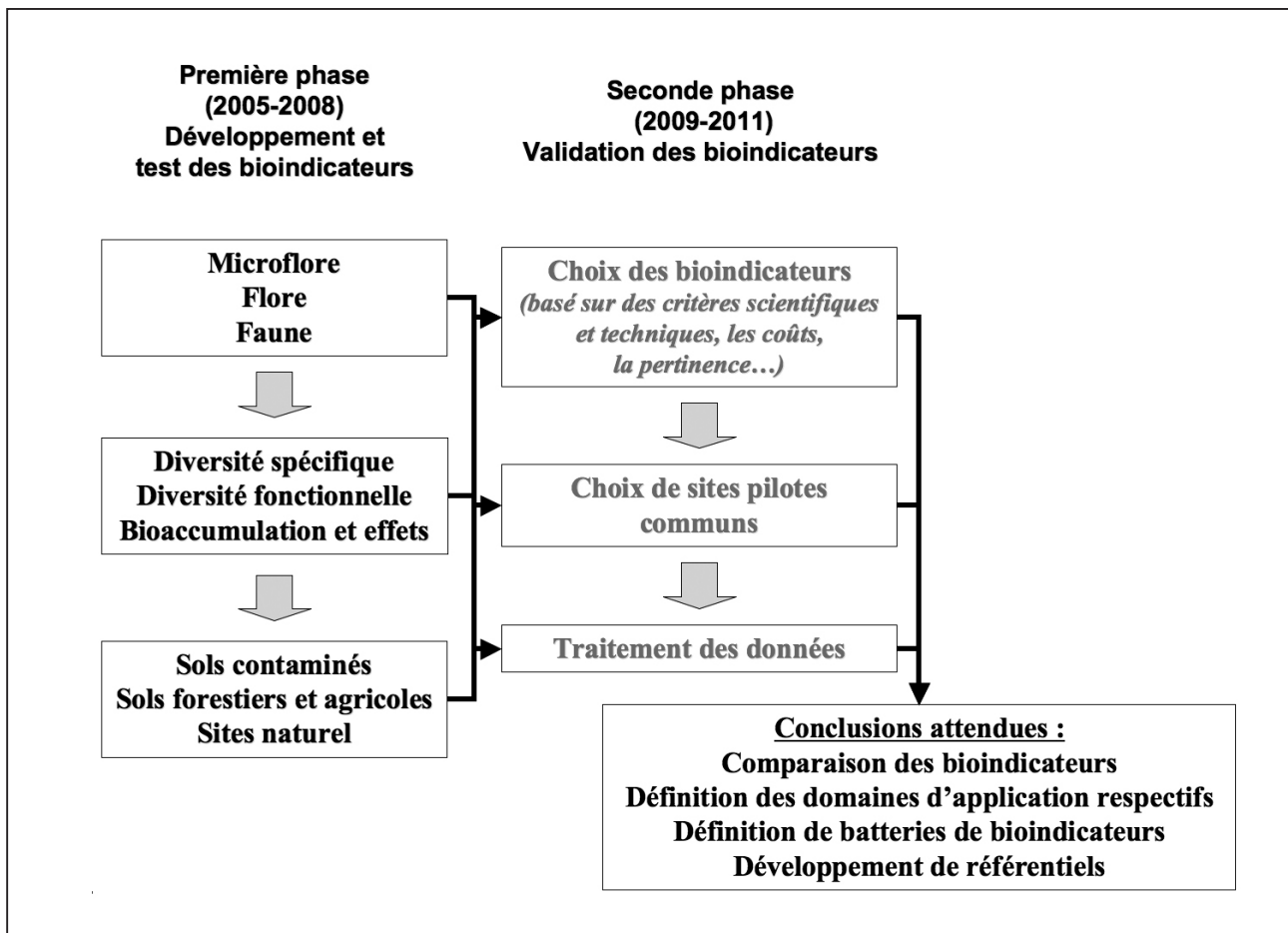
- la surveillance de la qualité des sols pour laquelle des bioindicateurs simples à mesurer, peu chers et répétables sont nécessaires. Actuellement, la mise en place au niveau européen de réseaux de surveillance (Morvan *et al.*, 2008 ; Kibblewhite *et al.*, 2008) de la qualité des sols (tels que le RMQS en France, Arrouays *et al.*, 2003) repose essentiellement sur la mesure des propriétés physiques et chimiques des sols mais il est envisagé, à moyen et long terme, d'intégrer les propriétés biologiques lorsque des méthodes de mesure seront disponibles et validées (Gardi *et al.*, 2009 ; Rutgers *et al.*, 2009).

- la caractérisation approfondie de l'état biologique des sols pour laquelle des techniques plus complexes pourront être mises en œuvre. Cette caractérisation aura notamment pour objectif d'évaluer les impacts environnementaux liés aux activités humaines et aux différentes techniques de gestion des sols. Les bioindicateurs doivent alors permettre de comprendre, d'appréhender et de prévoir les transformations ayant lieu dans l'écosystème. Ils devront notamment être en mesure de mettre en évidence les effets liés à la présence de polluants (éléments traces et/ou polluants organiques) quelle qu'en soit l'origine (industrielle, agricole, retombées atmosphériques), à la transformation physique et/ou chimique des sols (ex : compaction, modifications liées aux techniques culturales, acidification des sols par des retombées atmosphériques, gestion des matières organiques exogènes). Bien évidemment, certains de ces bioindicateurs ne pourront être utilisés en routine, ils seront alors destinés à des sites expérimentaux instrumentés comme les observatoires de recherche en environnement.

- l'évaluation détaillée des risques pour les écosystèmes sur les sites pollués pour laquelle une méthodologie plus complète est nécessaire notamment afin de relier les effets observés à des niveaux d'exposition. En effet, l'évaluation des risques pour les écosystèmes est une approche encore difficile à conduire en raison des imprécisions qui existent au niveau de la démarche et d'une méconnaissance des effets observés jugés acceptables. Des étapes clés telles

**Figure 1** - Les différents niveaux de réponse des bioindicateurs.  
**Figure 1** - Bioindicators : scales and effects.



**Figure 2** - Présentation du programme ADEME « Bioindicateurs de qualité des sols».**Figure 2** - Framework of ADEME's national programme «Bioindicators for soil quality».

que la définition des couples « cible-polluant » et des paramètres d'exposition sont encore à préciser car les analyses chimiques classiques (teneur totale en polluants) ne sont pas suffisantes pour appréhender le comportement des polluants et leurs effets combinés sur les organismes terrestres. Il est donc nécessaire de développer des bioindicateurs d'accumulation et d'effets permettant notamment de rendre compte des interactions des polluants avec le milieu, de leurs biodisponibilités et de leurs transferts dans les chaînes trophiques. Les résultats obtenus par certains bioindicateurs pourront alors être utilisés dans des modèles de transferts (ex : modèles biogéochimiques, modèles de bioaccumulation).

### Organisation du programme de recherche

Le programme a été séquencé en 2 phases : une première phase de développement et une seconde de validation des indicateurs (figure 2).

- La première phase, initiée suite à l'appel à projets lancé en 2004 a pris fin en 2008. En plus de 6 projets retenus, l'ADEME a

complété ce programme par différentes thèses cofinancées et des contrats de recherche complémentaires sur le thème de la bioindication dans le domaine des sols. Ainsi, certains projets de recherche ont été retenus ultérieurement par le biais d'autres appels à projets du MEEDDM (ex : PNETOX, GESSOL), de l'INRA (ex : ECOGER), de l'ANR ou du GIS Sol (ex : RMQS) auxquels l'ADEME est associée. L'objectif spécifique de cette phase était d'évaluer différents bioindicateurs existants et de favoriser l'émergence de nouveaux bioindicateurs. Ainsi, cette première phase a réuni 37 équipes, impliquées dans 19 projets (tableau 1). Plus de 80 indicateurs biologiques ont été ainsi évalués (de l'état cellulaire jusqu'aux populations), sur des végétaux, des animaux et des microorganismes.

- La seconde phase, démarrée en 2009, a pour objectif de tester un ensemble de bioindicateurs jugés comme étant les plus pertinents et les plus opérationnels sur un nombre défini de sites ateliers, choisis en fonction des thématiques couvertes par l'ADEME (ex : épandage de déchets, sites contaminés, retom-



**Tableau 1** - Titre, coordinateurs des projets et des thèses impliqués dans la première phase du programme ADEME « Bioindicateurs de la qualité des sols ».

**Table 1** - Title and coordinators of the projects and PhD thesis involved in the 1st step of the ADEME's national programme "Bioindicators for soil quality".

N°	Titre et coordinateurs d'équipe	Type d'indicateurs	Origine du projet
1	Développement de bioindicateurs de l'état du sol basés sur le profil taxonomique de la communauté bactérienne tellurique définie par hybridation sur « puces à ADN »	Indicateur microbien	Programme issu de l'appel à projets ADEME 2004
	- T. Vogel, UMR CNRS 5557, Univ. Claude Bernard, LYON 1		
	- S. Traverse, BURGEAP		
	- O. Sibourg, Laboratoire WESSLING		
2	Elaboration et validation d'un indice de l'état biologique du sol basé sur la diversité microbienne fonctionnelle et spécifique	Indicateur microbien	Programme issu de l'appel à projets ADEME 2004
	- K. Laval et S. Taïba, APCA-ESITPA Laboratoire BioSol, Rouen		
	- C. Mougou, Unité de phytopharmacie et médiateurs chimiques, INRA Versailles		
	- D. Tessier, Unité de science du sol, INRA Versailles		
	- A. Lemaire, Laboratoire LMRS, Univ. Rouen		
	- S. Barry, Laboratoire du froid, Univ. Rouen		
3	Effet des pratiques de gestion et des modes d'aménagement agricoles et sylvicoles sur les communautés microbiennes intervenant sur la fertilité et la qualité des sols.	Indicateur microbien	Programme INRA-ECOGER
	- F. Martin, INRA Nancy		
	- P. Lemanceau, INRA Dijon		
4	Estimation du potentiel hydroxylant d'un sol par PCR quantitative : un nouvel outil d'évaluation et de prédiction de la pollution d'un sol par des micropolluants organiques	Indicateur microbien	Thèse ADEME 2004
	- N. El-Azhari, INRA Dijon		
	- F. Martin-Laurent, INRA Dijon		
5	Bioindicateurs microbiens et biosurveillance des agrosystèmes. Cas des sols viticoles	Indicateur microbien	Thèse ADEME 2004
	- Pascaud, Univ Victor Segalen - Bordeaux 2		
	- G. Soulas, Univ Victor Segalen - Bordeaux 2		
6	Impact de différentes techniques de travail du sol sur le fonctionnement microbiologique d'un sol conduit en agriculture biologique	Indicateur microbien	Thèse ADEME 2005
	- J.F. Vian, ISARA Lyon		
	- J. Peigné, ISARA Lyon		
7	Caractérisation de perturbations anthropiques affectant le fonctionnement et la qualité des sols. Développement de bioindicateurs enzymatiques	Indicateur microbien	Thèse ADEME 2005
	- C. Floch et S. Criquet, Univ St Jérôme, Marseille		
8	Vers la normalisation de méthodes d'évaluation de la qualité des sols - Un exemple : l'extraction de l'ADN du sol en vue de caractériser la diversité microbienne.	Indicateur microbien	Contrat ADEME en lien avec l'AFNOR
	- Fabrice Martin, INRA Dijon		

<b>9</b>	Caractérisation par des outils d'écologie microbienne moléculaire des sols issus du réseau RMQS afin de développer un référentiel national	Indicateur microbien	Contrat ADEME en lien avec le GIS Sol
	- L. Ranjard, INRA Dijon		
<b>10</b>	Recherche de bioindicateurs d'impact du recyclage de produits résiduels organiques en sols cultivés : lien avec la disponibilité des micropolluants organiques et métalliques	Indicateur microbien et lombricien	Programme issu de l'appel à projets ADEME 2004
	- E. Barriuso et S. Houot, UMR INRA INA-PG		
	- Y. Capowiez, INRA Avignon		
	- P. Cambier, INRA Versailles		
	- C. Steinberg INRA Dijon		
	- C. Leyval, LIMOS, Univ. Nancy		
	- M. Poitrenaud, CReeD		
- T. Lebeau, UHA			
<b>11</b>	Développement de biomarqueurs d'effets néfastes durables des métaux sur les fonctions physiologiques d'invertébrés du sol	Indicateur lombricien	Thèse ADEME 2005
	- F.Brulle, USTL - Lille		
	- F.Vandenbulcke, USTL - Lille		
<b>12</b>	Connaissance et utilisation de l'écologie intégrative des nématodes afin notamment d'évaluer leur potentiel de bioindication pour la gestion des écosystèmes.	Indicateur nématode	Programme INRA-ECOGER
	- C. Villenave et M. Fargette, IRD Montpellier		
<b>13</b>	Développement de bioindicateurs de qualité des sols basés sur la macrofaune du sol	Indicateur macrofaune	Programme issu de l'appel à projets ADEME 2004
	- P. Lavelle, IRD, UMR 137 BioSol, Univ. Paris VI, VII et XII		
	- T. Decaens, Labo ECODIV, Université de Rouen		
<b>14</b>	La végétation des friches métalliques : caractéristiques écophysologiques et influence sur la mobilité des métaux lourds	Indicateur végétaux	Programme MEDAD-PNETOX 2003
	- O. Faure, J-C Leclerc, LEPA, Univ. Saint-Etienne		
	- J-L Bouchardon, GENERIC, ENSM de Saint-Etienne		
	- Hitmi, UPBV, IUT d'Aubières		
	- G. Ledoight, ERTAC, Univ. Blaise Pascal, Clermont-Ferrand II		
- Piquet, DAE, ENITA de Clermont-Ferrand			
<b>15</b>	Biomarqueurs végétaux : candidats lipidiques - Etudes sur sites et normalisation de l'indicateur	Indicateur végétaux	Contrat ADEME en lien avec l'AFNOR
	- J.J. Bessoule, Université de Bordeaux 2		
<b>16</b>	Validation de bioindicateurs floristiques pour la surveillance de l'état nutritionnel des sols forestiers français à partir des données de l'inventaire Forestier National	Indicateur végétaux	Programme issu de l'appel à projets ADEME 2004
	- C. Gégout, ENGREF Nancy		
<b>17</b>	Mise au point d'indicateurs dendrochimiques des variations spatiales et temporelles de l'acidité des milieux forestiers	Indicateur végétaux	Programme issu de l'appel à projets ADEME 2004
	- J.L Dupouey, INRA Nancy		

18	Etude de la composante biologique des sols à l'aide d'un échantillonnage systématique à l'échelle régionale (RMQS Bretagne)	Ensemble d'indicateurs microbiens et de faune du sol	Contrat ADEME en lien avec le GIS Sol
	- D.Cluzeau, UMR CNRS EcoBio, Univ Rennes		
	- C. Jolivet, INRA Orléans InfoSol		
	- C. Walter, Agrocampus Rennes, UMR INRA SAS		
	- P. Lavelle, Univ. Paris 12 - Bondy, UMR IRD BioSol		
	- J. Cortet, ENSAIA-INPL Nancy		
	- JF. Ponge, UMR CNRS Brunoy		
	- C. Villenave, IRD Montpellier, UR Seq-Bio		
	- F. Martin et R. Chaussod, INRA Dijon, UMR		
19	Spatialisation des TrAnsferTs dans des Réseaux Trophiques Terrestres (STARTT) - Biodisponibilité, transferts et effets des éléments trace métalliques dans des réseaux trophiques terrestres : changements d'échelle spatiale et de niveau d'organisation biologique	Ensemble d'indicateurs de faune du sol et de vertébrés terrestres	Contrat ADEME en lien avec l'ANR
	- F. Douay, ISA Lille		
	- R. Scheifler et de vaufleury Annette, Université de Besançon		

bées atmosphériques, gestion de la matière organique, pollution diffuse des sols par les pratiques agricoles).

## PRINCIPAUX ACQUIS DE LA PREMIÈRE PHASE

Sans entrer dans le détail des résultats acquis lors de cette première phase, puisque c'est l'objet de ce numéro spécial de la revue, les principales conclusions des recherches menées entre 2005 et 2008 sont les suivantes :

Les données acquises sur les paramètres microbiologiques des sols (biomasse, activités enzymatiques, diversité) montrent que ces descripteurs sont très sensibles, notamment aux conditions d'usage des sols et aux pratiques agricoles (Dequiedt *et al.*, 2009; El Azahri *et al.*, 2008, 2007). Leurs variabilités saisonnières et annuelles, bien que parfois importantes, permettent cependant de toujours différencier des sols en situations contrastées comme : prairies, parcelles cultivées et rotations « prairies/cultures » (Laval *et al.*; 2009), labour/non labour (Vian *et al.*, 2009, 2008), épandages de composts (Houot *et al.*, 2009; Leyval *et al.*, 2009) Dans d'autres essais, s'intéressant plus particulièrement à la contamination métallique ou organique (pesticides), les activités enzymatiques ont également permis de détecter des gradients de contamination (Floch *et al.*, 2009a et 2009b).

Les résultats sur les invertébrés du sol (diversité de la macrofaune, des lombriciens, des nématodes et des collemboles), obtenus essentiellement dans des situations agricoles

(ex : prairies, parcelles cultivées, épandage de déchets), ont permis de mettre en évidence l'effet de l'usage des sols (Cluzeau *et al.*, 2009; Ruiz Camacho *et al.*, 2009) mais également des pratiques agricoles (ex : fertilisation minérale ou organique, apport de pesticides, labour) sur les communautés d'invertébrés du sol (Capowiez *et al.*, 2009; Villenave *et al.*, 2009). Des essais réalisés au laboratoire sur l'exposition de vers de terre à des sols pollués ont démontré l'existence de biomarqueurs spécifiques de certains métaux (ex : Cd) (Brullé et Vandembulcke, 2009; Brulle *et al.*, 2008, 2006).

Les analyses des communautés végétales sur d'anciens sites métallurgiques ou des sites forestiers mettent en évidence des associations spécifiques (ex : adaptation d'espèces, espèces tolérantes ou accumulatrices) liées aux conditions de milieux et aux paramètres abiotiques des sols (ex : contaminants, pH, carbonates) (Remon *et al.*, 2009, 2005; Marage et Gégout, 2009; Dupouet *et al.*, 2009, Seynave *et al.*, 2008; Coudun *et al.*, 2006). En complément, la mesure de leur teneur en contaminants métalliques et l'induction de biomarqueurs spécifiques (ex : acides gras membranaires) permettent d'identifier les zones présentant le plus de risques de transfert (i.e. forte biodisponibilité) (Le Guédard *et al.*, 2009, 2008; Souguir *et al.*, 2009, Vernay *et al.*, 2009, 2008, 2007).

Les analyses de contaminants dans les chaînes trophiques animales (ex : invertébrés, mammifères, oiseaux) et la mesure de biomarqueurs ont permis de quantifier les risques de transfert des contaminants mais également leurs effets sur les organismes (Gimbert et de Vaufleury, 2009; de Vaufleury *et al.*, 2009; Gimbert *et al.*, 2008; Hispard *et al.*, 2008).



**Tableau 2** : Indicateurs basés sur la microflore du sol retenus pour la 2<sup>nd</sup>e phase du programme.**Table 2** : Indicators based on soil microflora selected for the 2<sup>nd</sup> step of the ADEME's national programme "Bioindicators for soil quality".

Type d'indicateurs		Description des indicateurs	Laboratoires impliqués
Indicateurs de quantité	Globaux	Extraction et quantification de l'ADN total*	ESITPA
		Biomasse fongique	INRA Versailles
		Biomasse bactérienne et pseudomonas cultivable	Université de Rouen
		Biomasse bactérienne / fongique PLFA	INRA Dijon
	Non globaux	Pseudomonas cultivables/non-cultivables (par qPCR)	
		qPCR16s et qPCR18s	
Indicateurs d'activité	Activités enzymatiques (déshydrogénase, phosphatases acides et alcalines, b-glucosidase, b-galactosidase, N-acétylglucosaminidase, arylsulfatase, arylamidase, uréase, cellulase/xylanase, phénoloxydase, phospho di/tri-estérase)		ESITPA
			INRA Versailles
			Université de Provence
	Diversité fonctionnelle (Biolog et essai multi-enzymatique*)		Université de Provence
			ESITPA
	Potentiel de minéralisation de C et N		INRA Dijon
		Université de Provence	
Indicateurs de structure génétique	PCR-TTGE		CNRS Nancy
	PCR-Empreinte ARISA		INRA Dijon

Lors de cette première phase, les différentes équipes impliquées ont développé et testé leurs indicateurs dans les situations qu'elles maîtrisaient le mieux (au terrain ou au laboratoire), sans avoir le temps et la possibilité de l'évaluer dans d'autres conditions. De plus, les indicateurs n'ont que très rarement été croisés sur des sites communs. Il est donc actuellement impossible de les comparer, de juger de leur domaine d'utilisation et donc de définir des batteries optimales en fonction de la situation à évaluer (ex : évaluation des risques, surveillance). Dès lors, la seconde phase du programme se concentrera sur un nombre plus limité d'indicateurs et de sites.

Ainsi, même si la plupart des outils ont démontré leur intérêt, une étape de sélection s'est avérée nécessaire afin de ne conserver que les indicateurs les plus utilisables en routine (Devillers *et al.*, 2009). Les critères retenus pour la sélection étaient à la fois scientifiques, dépendant de l'indicateur (ex : variations spatiales et/ou temporelles connues, capacité à renseigner rapidement sur une modification du milieu, facilité à différencier les variations naturelles des perturbations/stress/contraintes induits par l'activité humaine) et techniques dépendant de la méthode (ex : normalisation, niveau de compétences, coût actuel, opérationnalité, base de données disponible pour interpréter les résultats). Cette phase de sélection a permis de diminuer le nombre d'indicateurs par 2 en ne conservant que les indicateurs

les plus aboutis et prometteurs. Ainsi, les indicateurs demandant encore des étapes de développement ont été éliminés (ex : puces à ADN, Sanguin *et al.*, 2006) de même que ceux basés uniquement sur des mesures de laboratoire (ex : exposition d'organismes de laboratoire à des échantillons contaminés).

## LA SECONDE PHASE DU PROGRAMME

L'objectif de la seconde phase du programme est de mettre en œuvre tous les outils biologiques sélectionnés (bioindicateurs) sur les mêmes sites ateliers (site agricole, site forestier, site contaminé) et de valider leur utilisation en fonction de la problématique étudiée.

### Les bioindicateurs retenus

Les bioindicateurs retenus suite à la première phase du programme sont présentés dans les *tableaux 2 à 4*. Pour les indicateurs basés sur la microflore des sols, les diversités bactérienne de structure (obtenue par des techniques de biologie moléculaires) et de fonction (obtenue par des techniques métaboliques globales de type respiration ou par le suivi d'activités enzymatiques spécifiques) ont été retenues (*tableau 2*). Concernant la faune, des indicateurs basés sur la diversité des populations

**Tableau 3** : Indicateurs basés sur la faune du sol retenus pour la 2<sup>nd</sup>e phase du programme.**Table 3** : Indicators based on soil invertebrates selected for the 2<sup>nd</sup> step of the ADEME's national programme «Bioindicators for soil quality».

Type d'indicateurs	Description des indicateurs	Laboratoires impliqués
<b>Global</b>	Indicateur global basé sur la macrofaune totale et sur des données physico-chimiques (IGQS)	IRD Bondy
<b>Mesure des communautés</b>	Macrofaune	IRD Bondy
	Nématofaune totale	IRD Montpellier
	Mésafaune (Collemboles et Acariens)	ENSAIA Nancy
	Lombriciens	Université de Rennes 1
<b>Mesure sur des individus</b>	Biomarqueurs moléculaires mesurés sur lombriciens (métallothionéines)	Université de Lille
	Biomarqueurs / micromammifères	Université de Franche-Comté
	Bioaccumulation passive et active chez l'escargot	
	Bioaccumulation chez les micromammifères	

**Tableau 4** : Indicateurs basés sur la flore du sol retenus pour la 2<sup>nd</sup>e phase du programme.**Table 4** : Indicators based on flora selected for the 2<sup>nd</sup> step of the ADEME's national programme «Bioindicators for soil quality».

Type d'indicateurs	Description des indicateurs	Laboratoires impliqués
<b>Effets individuels</b>	Lipides foliaires	Université de Bordeaux II
	Teneurs en acides aminés libres	IUT Clermont Ferrand
	Bioaccumulation des ETM	Ecole des Mines de St Etienne
<b>Etat de l'écosystème</b>	Dendrochimie	INRA Nancy

d'invertébrés du sol (macrofaune totale, lombriciens, nématodes, collemboles) ont été sélectionnés (*tableau 3*). Des mesures d'effet et d'accumulation seront également réalisées sur les escargots, les vers et des micromammifères. Pour la flore, les mesures de communautés végétales ayant été jugées difficiles à réaliser sur autant de sites, il a été préféré de ne mesurer que des paramètres individuels d'accumulation et d'effet (*tableau 4*). Tous ces indicateurs (à l'exception notamment des indicateurs basés sur les micromammifères et des mesures dendrochimiques qui ne seront réalisés que sur des sites présentant des superficies importantes) seront mesurés sur l'ensemble de sites ateliers choisis en commun, en lien avec les thématiques prioritaires de l'ADEME. En plus de ces bioindicateurs, des métriques paysagères seront calculées sur chaque site afin de prendre en compte l'influence potentielle de l'environnement des sites sur les indicateurs biologiques (en effet, l'importance de la fragmentation du paysage peut parfois expliquer la répartition et l'abondance de la diversité des organismes).

## Les sites ateliers retenus

Différents sites ateliers ont été proposés par les équipes du programme. L'ADEME a ensuite réalisé une sélection en fonction de différents critères : thématique d'étude, accès libre, confidentialité des résultats obtenus, pas de modification de l'usage pendant 3 ans, existence de données sur le site pour positionner les zones de prélèvement, antériorité de mesures de type bioindicateurs... Le *tableau 5* présente les 12 sites retenus en fonction de leur usage, de leur niveau de contamination et de leur intérêt dans le cadre des thématiques prioritaires à l'ADEME. Certains sites couvrent plusieurs contextes pédologiques ou d'usage des sols (ex: Metaleurop, Auzon, bassin versant normand) et feront l'objet de plusieurs zones de prélèvements.

**Tableau 5** : Liste des sites ateliers retenus - Contexte et niveau de contamination des différents sites.**Table 5** : Pilot sites selected for the 2nd step of the ADEME's national programme «Bioindicators for soil quality»

Name of the site, responsible, land use/practices and contamination level.

Usage	Nom du site	Thématique	Niveau de contamination
	Gestionnaire		
Agricole	Thil	Site expérimental en agriculture biologique et effet du labour	Faible
	ISARA Lyon		
	Gotheron	Site expérimental en verger (différentes protections phytosanitaires)	Faible à forte
	INRA Aix		
	Feucherolles	Site expérimental d'épandage de déchets	Faible
	INRA Versailles		
	Bassin versant en Normandie	Parcelles sous culture et sous prairie	Faible à moyenne (liée à la contamination diffuse en HAP par la proximité du port autonome de Rouen)
	Université de Rouen		
Milieu naturel <sup>a</sup>	PS 76	Pin sylvestre (Seine Maritime)	Faible à moyenne (liée à des retombées atmosphériques)
	EPC 08	Epicéa (Ardennes)	
	SP 57	Sapin (Moselle)	
	EPC 63	Epicea (Puy-de-Dôme)	
Sol contaminé	MetalEurop	Plusieurs paysages et usages des sols	Faible à forte liée (liée à la contamination diffuse des sols par des éléments traces suite à l'exploitation d'une fonderie)
	ISA Lille		
	Auzon	Ancienne usine de production de phytosanitaires	Faible à forte (liée à la contamination locale en As)
	IUT Clermont Ferrand		
	Crassier métallurgique stéphanois	Crassier plus ou moins recolonisé par des végétaux	Faible à forte (liée aux dépôts plus ou moins anciens de déchets métallurgiques)
	Ecole des Mines St Etienne		
	GISFI	Contamination en HAP sous atténuation naturelle	Faible à forte
	CNRS Nancy		

<sup>a</sup> Les sites « milieu naturel » correspondent à des placettes forestières du réseau RENECOFOR sous la gestion de l'ONF. Ces parcelles ont été choisies en fonction de leur proximité avec les autres sites agricoles ou anthropisés étudiés.

## Le déroulement de la seconde phase

Compte tenu du nombre important de sites et des contraintes de prélèvement liées aux bioindicateurs qui font que ceux-ci ne peuvent être mesurés qu'en période d'activité favorable (printemps ou automne), il a été décidé de réaliser une première campagne de prélèvements au printemps 2009 qui échantillonnera les sites de la moitié Nord et de conduire au printemps 2010 les sites situés dans la partie Sud.

Pour chaque site, le gestionnaire a été chargé de définir l'emplacement exact des zones de prélèvement en fonction de stratégies propres au site (ex: gradient de contamination, d'usage, de type de sol). Un protocole de prélèvement discuté collectivement et devant répondre aux objectifs de chaque équipe a été adopté et il est appliqué sur chaque site par une même équipe de préleveurs. Cette stratégie est la même que celle adoptée dans le cadre du RMQS Biodiv (Cluzeau *et al.*, 2009) et correspond aux préconisations du groupe de travail du programme européen ENVASSO (Bispo *et al.*, 2008). Chaque zone de prélèvement fait ainsi l'objet d'une stratégie d'échantillonnage identique (basée sur une grille) afin d'être en mesure de comparer les données issues des différents sites.

Les prélèvements de sol sont expédiés par l'équipe de prélèvement en colis express à 4 °C aux laboratoires. En parallèle, un échantillon est envoyé pour analyse à l'INRA d'Arras - Laboratoire des sols: un bordereau analytique commun a été défini afin d'être en mesure d'interpréter les données biologiques (paramètres physiques et chimiques agronomiques, contenu en éléments traces, présence de micropolluants organiques).

Compte tenu du nombre important de données physiques, chimiques et biologiques générées par le programme et du besoin avéré de traiter de manière hiérarchisée l'ensemble des résultats, il a été décidé d'une part de créer une base de données commune et de sélectionner les traitements statistiques appropriés des données, en fonction de la nature des données et des objectifs des traitements (ex: mise en évidence de doses-réponses, effet des paramètres abiotiques sur les réponses biologiques, modélisation des données, identification des complémentarités/redondances entre les outils, élaboration des valeurs de référence) La conduite de cette seconde phase du projet nécessitant une part importante de coordination, notamment afin d'assurer sur un temps relativement court (printemps 2009 et 2010) de nombreux prélèvements répartis sur l'ensemble de la France, celle-ci a été confiée à l'Université de Rennes 1 qui avait précédemment réalisé le même travail, avec succès, dans le cadre du RMQS Biodiv.

## CONCLUSION

Si la première phase du programme a permis de tester et de développer différents bioindicateurs dans plusieurs situations contrastées de sol, elle n'a pas permis de les comparer et de juger de leur complémentarité. Cette seconde phase du programme doit permettre de valider les différents bioindicateurs et de définir notamment leur domaine d'application (ex: surveillance de la qualité des sols ou évaluation des risques pour les écosystèmes). La mesure de l'ensemble des bioindicateurs sélectionnés sur tous les sites communs permettra également de mieux qualifier ces outils biologiques, permettant leur calibration (amplitude des réponses à la présence d'un toxique ou à une modification du sol telle que le tassement, le changement d'usage, l'acidification, etc...) et une évaluation de leur sensibilité (peut-on distinguer les réponses liées aux variations naturelles des réponses liées à un toxique). Bien qu'obtenues sur un nombre limité de sites, les données de cette seconde phase du programme, complétées par celles acquises lors de la première phase, permettront d'élaborer un premier référentiel facilitant ainsi l'interprétation des données ultérieures et leur utilisation pour la surveillance et la protection des sols.

## BIBLIOGRAPHIE

- Arrouays D., Jolivet Cl., Boulonne L., Bodineau G., Ratié C., Saby N. et Grolleau E., 2003 - Le Réseau de Mesures de la Qualité des Sols (RMQS) de France. *Étude et Gestion des Sols*, Volume 10, 4, 241-250
- Bispo A., Peres G., Cluzeau D., Graefe U., Römbke J., Rutgers M., Fuchs M., Sousa J.P., Schulte R., Dombos M., Simon B., Gál A., Cortet J., Chaussod R., Ritz K., Creamer R., Winding A., English M., Boixadera J., Rubio J.L., 2007 - ENVASSO (Environmental assessment of soil for monitoring) WP 5 - Decline in soil biodiversity. EU Contract No. 022713, 22 p.
- Brulle F. et Vandenbulcke F., 2009 - Développement de biomarqueurs d'exposition aux métaux. *Étude et Gestion des Sols*, vol. 16/3-4, pp. 159-173
- Brulle F., Cocquerelle C., Wamalah A.N., Morgan A.J., Kille P., Leprêtre A. & Vandenbulcke F., 2008 - cDNA cloning and expression analysis of *Eisenia fetida* (Annelida; Oligochaeta) phytochelatase synthase under cadmium exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71, 47-55
- Brulle F., Mitta G., Cocquerelle C., Vieau D., Lemièrre S., Leprêtre A. & Vandenbulcke F., 2006 - Cloning and Real-Time PCR testing of 14 potential biomarkers in *Eisenia fetida* following cadmium exposure. *Environmental Science & Technology*, 40, 2844-2850
- Capowicz Y., Rault M., Mazzia C., Poitrenaud M., Houot S., 2009 - Etude des effets des apports de produits résiduels organiques sur la macrofaune lombricienne en conditions de grandes cultures. *Étude et Gestion des Sols*, vol. 16/3-4, pp. 175-185
- Cluzeau D., Pérès G., Guernion M., Chaussod R., Cortet J., Fargette M., Martin-Laurent F., Maitelle T., Pernin C., Ponge J-F., Ruiz-Camacho N., Villenave C., Rougé L., Mercier V., Bellido A., Cannavacciuolo M., Arrouays D., Boulonne L., Jolivet C., Lavelle P., Velasquez E., Plantard O., Walter C., Foucaud-Lemercier B., Tico S., Giteau J-L., Bispo A., 2009 - Intégration de la biodiversité des sols dans les réseaux de surveillance de la qualité des sols: exemple du programme-pilote à l'échelle régionale, le RMQS BioDiv. *Étude et Gestion des Sols*, vol. 16/3-4, pp. 187-201

- Commission Européenne, 2006 - Thematic Strategy for Soil Protection, Communication from the Commission to the Council, the European Parliament, the European Economic and Social Committee and the Committee of the Regions, Septembre 2006 (disponible à l'adresse: [http://ec.europa.eu/environment/soil/pdf/com\\_2006\\_0231\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/environment/soil/pdf/com_2006_0231_en.pdf))
- Coudun C., Gégout J.C., Piedalu C., Rameau J.C., 2006 - Soil nutritional factors improve plant species distribution models: an illustration with *Acer campestre* L. in France. *Journal of Biogeography*, 33: 1750-1763
- de Vaufléury A., Fritsch C., Gimbert F., Pauget B., Coeurdassier M., Crini N. et Scheifler R., 2009 - Utilisation et intérêts des escargots et des micro-mammifères pour la bioindication de la qualité des sols. *Etude et Gestion des Sols*, vol. 16/3-4, pp. 203-217
- Dequiedt S., Lelièvre M., Jolivet C., Saby N., Martin M., Thioulouse J., Maron P.A., Mougé C., Chemidlin Prévost-Bouré N., Arrouays D., Lemanceau P. et Ranjard L., 2009 - ECOMIC-RMQS: biogéographie microbienne à l'échelle de la France. Etat d'avancement et premiers résultats. *Etude et Gestion des Sols*, vol. 16/3-4, pp. 219-231
- Devillers J., Pandard P. et Charissou. A.M., 2009 -Sélection multicritère de bioindicateurs de la qualité des sols. *Etude et Gestion des Sols*, vol. 16/3-4, pp. 233-242
- Dupouey J.L., Rose C., Bailly R., Behr P., Ponton S. et Weitner A., 2009 - Mise au point d'indicateurs dendrochimiques des variations spatiales et temporelles de l'acidité des milieux forestiers. Rapport final du contrat DAEME n° 0562C0030 - 26 p.
- El Azhari N., Chabaud S., Percept A., Bru D. and Martin-Laurent F., 2007 - pcaH, a molecular marker for estimating the diversity of the protocatechuate-degrading bacterial community in the soil environment. *Pest Management Science*, 63:459-467
- El Azhari N., D. Bru, A. Sarr and Martin-Laurent F., 2008 - Estimation of the density of the protocatechuate-degrading bacterial community in soil by real-time PCR. *European Journal of Soil Science*. 59: 665-673
- Floch C., Alarcon-Gutierrez E., Criquet S., 2009a - Metal effects on phenol oxidase activities on soils. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72, 108-114
- Floch C., Capowiez Y., Criquet, S., 2009b - Enzymes activities in apple orchard agroecosystems: How are they affected by management strategy and soil properties. *Soil Biology and Biochemistry*, Volume 41, Issue 1, 61-68
- Gardi C., Montanarella L., Arrouays D., Bispo A., Lemanceau P., Jolivet C., Mulder C., Ranjard L., Rombke L., Rutgers M., Menta C., 2009 - Soil Biodiversity monitoring in Europe: ongoing activities and challenges. *European Journal of Soil Science*. 60:807-919.
- Gimbert F. et de Vaufléury A. 2009 - Bioindication et unités (concentrations vs quantités): comparaison des cinétiques d'accumulation et d'élimination du Cd, Pb et Zn chez l'escargot *Helix aspersa*. *Etude et Gestion des Sols*, vol. 16/3-4, pp. 243-253
- Gimbert F., Mench M., Coeurdassier C., Badot P.-M. de Vaufléury A., 2008 - Kinetic and dynamic aspects of soil-plant-snail transfer of cadmium in the field. *Environmental Pollution*, 152, 736-745
- Hispard F., Schuler D., de Vaufléury A., Scheifler R., Badot P.M. and Dallinger R., 2008 -Metal distribution and metallothionein induction after cadmium exposure in the terrestrial snail *Helix aspersa* (gastropoda, pulmonata). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27(7), 1533-1542
- Houot S., Cambier P., Benoit P., Deschamps M., Jaulin A., Lhoutellier C., Barriuso E., 2009 - Effet d'apports de composts sur la disponibilité de micropolluants métalliques et organiques dans un sol cultivé. *Etude et Gestion des Sols*, vol. 16/3-4, pp. 255-274
- Kibblewhite M.G., Jones R.J.A., Baritz R., Huber S., Arrouays D., Micheli E., Stephens M., 2008 - ENVASSO final report part 1: scientific and technical activities. ENVASSO project (contract 022713) coordinated by Cranfield university, UK for scientific support to policy, European Commission 6th Framework Research Programme.
- Laval K., Mougé C., Akpa M., Barray S., Dur J.-C., Gangneux C., Lebrun J., Legras M., Lepelletier P., Plassart P., Taibi S., Trinsoutrot-Gattin I., 2009 - Un premier pas vers la compréhension des données biologiques. *Etude et Gestion des Sols*, vol. 16/3-4, pp. 275-287
- Lavelle P., Decaëns T., Aubert M., Barot S., Blouin M., Bureau F., Margerie F., Mora P., Rossi J.P., 2006 - Soil invertebrates and ecosystem services. *European Journal of Soil Biology* 42 (1), 3-15
- Lavelle P., Spain A., 2006 - *Soil Ecology*. Kluwer Scientific Publications, Amsterdam, The Netherlands, 651 pp.
- Le Guédard M., Schraauwers B, Larrieu I, Bessoule J.J. 2008 - Development of a biomarker for metal bioavailability: the lettuce Fatty Acid composition. *Environ Toxicol Chem*. 27(5):1147-51
- Le Guédard M., Bodineau G., Houot S. et Bessoule J.J. 2009 - Utilisation d'un bioindicateur lipidique végétal sur le site agricole de Feucherolles: effets de divers amendements sur les végétaux cultivés. *Etude et Gestion des Sols*.
- Leyval C., Steinberg C., Kuntz J., Beguiristain T., Edel-Hermann V, Leglizé P., Gautheron N., Lebeau T. et Houot S., 2009 - Impact d'amendements organiques sur la structure des communautés microbiennes des sols: choix des méthodes, validation et résultats. *Etude et Gestion des Sols*, vol. 16/3-4, pp. 299-312
- Marage D. et Gégout J.-C., 2009 - Importance of soil nutrients in the distribution of forest communities on a large geographical scale. *Global Ecology & Biogeography*, 18: 88-97
- Markert, B.A., Breure, A.M. and Zeichmeister H.G., 2003 - Bioindicators & bio-monitors: principles, concepts, and applications. Elsevier. Amsterdam. 997 p.
- Morvan X., Saby N.P.A., Arrouays D., Le Bas C., Jones R.J.A., Verheijen F.G.A., Bellamy P.H., Stephens M., Kibblewhite M.G., 2008 - Soil monitoring in Europe: a review of existing systems and requirements for harmonisation. *Science of the Total Environment* 391, 1-12 -
- Pankhurst C., Doube B.M. and Gupta V.V.S.R., 1997 - Biological indicators of soil health. Wallingford; New York. CAB International. 451 p.
- Remon E., Bouchardon J.-L., Joly J., Cornier B. et Faure O., 2009 - Accumulation et effets des éléments métalliques sur les populations végétales spontanées de trois crassiers métallurgiques: peut-on utiliser les plantes comme bioindicateurs ? *Etude et Gestion des Sols*, vol. 16/3-4, pp. 313-321
- Remon E., Bouchardon J.-L., Cornier B., Guy B., Leclerc, J.-C. & Faure O., 2005 - Soil characteristics, heavy metal availability and vegetation recovery at a former metallurgical landfill: implications in risk assessment and site restoration. *Environ. Poll.*, 137, 316-323 -
- Ruiz Camacho N., Velasquez E., Pando A., Decaëns T., Dubs F. et Lavelle P., 2009 - Indicateurs synthétiques de la qualité des sols. *Etude et Gestion des Sols*, vol. 16/3-4, pp. 323-338
- Rutgers M., Schouten A. J., Bloem J., van Eekeren N., de Goede R. G. M., Jagersop Akkerhuis G. A. J. M., van der Wal A., Mulder C., Brussaard L., Breure A. M. 2009 . Biological measurements in a nationwide soil monitoring network. *European Journal of Soil science*. In press
- Sanguin H., Herrera A., Oger-Desfeux C., Dechesne A., Simonet P., Navarro E., Vogel T.M., Moëgne-Loccoz Y., Nesme X. et Grundmann G. L., 2006 - Development and validation of a prototype 16S rRNA-based taxonomic microarray for Alphaproteobacteria. *Environmental Microbiology*. Vol 8 (2), 289 - 307
- Seynave, I., Gégout J.C., Hervé J.C., Dhôte J.F., 2008 - Is spatial distribution of *Fagus sylvatica* limited by its potential growth? *Journal of Biogeography*, 35, 1851-1862
- Souguir D., Goupil P., Ferjani E. et Ledoigt G., 2009 - Effets génotoxiques du Cuivre chez *Vicia faba* et *Pisum sativum*. *Etude et Gestion des Sols*, vol. 16/3-4, pp. 339-347

- Vernay P., Austruy A., Gauthier-Moussard C., et Hitmi A., 2009 - Germination et fonctionnement du système photosynthétique des végétaux comme bioindicateurs de pollution des sols. *Etude et Gestion des Sols*, vol. 16/3-4, pp. 349-357
- Vernay P., Gauthier-Moussard C., Hitmi A., 2007 -Interaction of bioaccumulation of heavy metal chromium with water relation, mineral nutrition and photosynthesis in developed leaves of *Lolium perenne* L. *Chemosphere*; 68(8):1563-75
- Vernay P., Gauthier-Moussard C., Jean L., Bordas F., Faure O., Ledoigt G. et Hitmi A., 2008 - Effect of chromium speciation on phytochemical and physiological parameters in *Datura innoxia*. *Chemosphere*, 72, 763-771
- Vian J.F., Peigné J., Chaussod R. et Roger-Estrade J., 2009 - Effet du mode de travail du sol sur les microorganismes à l'échelle du profil cultural. *Etude et Gestion des Sols*, vol. 16/3-4, pp. 359-368
- Vian J.F., Peigné J., Chaussod R., Roger-Estrade J., 2008 - «Effects of 4 tillage systems on soil structure and soil microbial biomass in organic farming», *Soil Use Management*. Doi: 10 -1111/j.1475-2743 -2008 -00176 -x, p10
- Villenave C., Oumar Ba A. et Rabary B., 2009 - Diagnostic du fonctionnement biologique du sol par l'analyse de la nématofaune: semis direct versus labour sur les hautes terres près d'Antsirabé (Madagascar). *Etude et Gestion des Sols*, vol. 16/3-4, pp. 369-378