

Université de Liège
Ecologie végétale et microbienne
Département des Sciences et Gestion de l'Environnement
Professeur M. Carnol

Convention 2009-2010 entre le Service Public de Wallonie et l'Université de Liège

Appréciation des indicateurs biologiques comme outils d'évaluation de la qualité des sols

RAPPORT FINAL
Novembre 2010

S. Malchair, H. Halen, M. Moutier & M. Carnol

Institut de Botanique B-22, Boulevard du Rectorat 27, 4000 Liège
Tel : 04/3663845 ou 04/3663866

M. Carnol, S. Malchair
Université de Liège ULg
Laboratoire Ecologie végétale et microbienne
Département des sciences et gestion de l'environnement
Boulevard du Rectorat 27 (bâtiment B22)
4000 Liège
Tel : 04/3663845 (M. Carnol), 04/3663866 (S. Malchair)
Tel/Fax : 04/3663817
E-mail : M.Carnol@ulg.ac.be; S.Malchair@ulg.ac.be

Sous-traitant :
Henri Halen, Moutier Marylène
Ram-Ses sprl
Parc scientifique Créalys
Résidence ALDEBARAN
Rue Camille Hubert, 13-2^e ét.
B-5032 Les Isnes
Tél : 081/73.50.96
Fax : 081/73.50.99
E-mail : h.halen@ram-ses.eu; m.moutier@ram-ses.eu

L'annexe 1, le chapitre 7 de ce rapport (qui est un résumé de l'annexe 1), ainsi que le chapitre 10 concernant l'analyse des potentialités et limites du logiciel TerraSys® dans le cadre de l'évaluation de la qualité biologique des sols ont été écrit par l'équipe Ram-Ses, dans le cadre d'une sous-traitance.

Résumé/Abstract

Le Laboratoire d'Ecologie Végétale et Microbienne de l'Université de Liège a réalisé une recherche d'intérêt général ayant pour objet l'appréciation d'indicateurs biologiques permettant d'évaluer la qualité des sols. Cette étude a été financée par le Service Public de Wallonie (SPW). Les données et les résultats de la présente convention sont la co-propriété du Service Public de Wallonie et du Laboratoire d'Ecologie Végétale et Microbienne (Prof. M. Carnol) de l'Université de Liège.

Objet de la recherche :

Les **objectifs** de ce projet sont l'appréciation d'indicateurs biologiques permettant d'évaluer la qualité des sols en réalisant :

- Une recherche et synthèse bibliographique des études récentes sur la qualité biologique des sols, des techniques de mesure disponibles et de leurs conditions d'applications. Une attention particulière sera portée sur les indicateurs adaptés aux types de sols wallons, aux pratiques courantes de gestion des sols et aux problèmes environnementaux auxquels la Wallonie est le plus souvent confrontée (pollution par les métaux lourds, les HAP, les hydrocarbures). Cette synthèse permettra d'améliorer nos connaissances sur la pertinence de certaines mesures biologiques comme outil d'évaluation de la qualité des sols.
- Un état des lieux des outils d'évaluation de la qualité biologique des sols dans les pays/régions voisins et de leur utilisation dans le cadre de politiques de gestion et/ou de protection des sols. Cet état des lieux a pour but d'explorer et d'analyser le cadre politique ainsi que les objectifs stratégiques poursuivis dans chacun des pays, les caractéristiques générales des différents réseaux existants, les indicateurs mis en œuvre ou suggérés, ainsi que les bases scientifiques justifiant le choix de ces indicateurs.
- Une analyse de l'aptitude des outils identifiés aux points 1 et 2 à prédire la capacité des sols à remplir leurs fonctions écologiques, en ciblant trois domaines d'action de ces outils : sols forestiers, sols agricoles et sols potentiellement pollués.
- Une évaluation des outils identifiés aux points 1 et 2 selon les critères suivants : sensibilité, reproductibilité, possibilité d'utilisation en routine, facilité d'interprétation, coût.
- Des propositions pour la suite des travaux de recherche (liens avec la politique des sols, perspectives de recherche).

Méthodes mises en œuvre :

Pour la synthèse bibliographique, deux bases de données pertinentes dans le domaine des sciences du vivant et du sol (ISIWeb of Knowledge et ScienceDirect) ont été consultées. Les publications pertinentes dans le cadre de l'étude de la qualité des sols au moyen d'indicateurs biologiques ont été consultées afin de répertorier les indicateurs les plus étudiés et de synthétiser les données concernant la sensibilité de ces indicateurs vis-à-vis des pratiques de gestion agricole et forestière, de l'occupation des sols et de diverses pollutions. D'autres données relatives aux méthodologies employées, à la reproductibilité et l'interprétabilité des mesures ont été acquises lors de cette recherche bibliographique. Concernant l'état des lieux à propos des outils d'évaluation de la qualité biologique des sols existant dans les pays/régions voisin(e)s de la Belgique/Wallonie- réalisé par le bureau d'études RamSes-, le travail s'est effectué par exploration de la documentation technique spécialisée et par enquête. La pré-sélection des indicateurs pertinents pour l'application en Wallonie s'est effectuée sur base d'une approche numérique procédant par itération en considérant à la fois la pertinence et l'applicabilité des indicateurs (critères scientifiques), leur utilisation dans des réseaux existants, ainsi que des critères purement méthodologiques.

Résultats :

Sur base des définitions de la qualité des sols et des indicateurs biologiques, on peut considérer un indicateur biologique de la qualité d'un sol comme étant un organisme ou un processus biologique qui est l'indice précoce de modifications de l'environnement et dont les valeurs fournissent une information sur la capacité d'un sol à fonctionner comme un système vivant, au sein d'écosystèmes naturels ou gérés, dans le but de maintenir la productivité biologique, de maintenir ou d'augmenter la qualité de l'eau et de l'air et de promouvoir la santé des animaux, des végétaux et humaines.

Après un inventaire de la diversité biologique des sols, nous nous sommes intéressés aux caractéristiques et occupations des sols en Wallonie pour aboutir à une sélection de combinaisons type de sol/type d'occupation pertinents dans le cadre d'un réseau de surveillance de la qualité biologique des sols. De plus, en fonction des

types d'usage rencontrés en Wallonie, nous avons considéré les services écosystémiques majeurs remplis par le sol afin de pouvoir juger de la pertinence des indicateurs c'est-à-dire de leur capacité à intervenir dans les différents services rendus par le sol au travers de processus ou d'éléments biotiques avec comme bénéfices attendus la production de nourriture ou de fibre ainsi que le maintien d'un environnement sain.

L'état des lieux des outils d'évaluation de la qualité biologique des sols dans les pays/régions voisins souligne que plusieurs pays en Europe – parmi lesquels les Pays-Bas, la Suisse, la France, le Royaume-Uni, l'Allemagne, l'Italie, l'Autriche, la Hongrie, la Tchéquie – ont mis en œuvre une démarche globalement similaire pour développer un système d'indicateurs et mettre en place un réseau de surveillance de la qualité biologique et/ou sur la biodiversité des sols de portée nationale. Ces démarches procèdent par étapes successives, à savoir : définition des objectifs du réseau de surveillance, propositions d'indicateurs (relevés bibliographiques), étape de pré-sélection de ces indicateurs, test de ces indicateurs et acquisitions de données de base (valeur de référence). Les réseaux mis en place poursuivent des objectifs stratégiques de surveillance et/ou de prévention mais aussi des objectifs scientifiques d'acquisition de données concernant la composante biologique des sols et ses fonctions spécifiques. Actuellement, seuls les Pays-Bas ont un réseau de surveillance de la qualité biologique des sols déjà en place et fonctionnel au niveau national. Les réseaux dans les autres pays sont soit au stade de test, soit fonctionnels à l'échelle régionale.

En intégrant les données acquises au cours de cette recherche bibliographique et au cours de l'état des lieux des outils d'évaluation de la qualité biologique des sols dans les pays/régions voisins, les indicateurs biologiques de la qualité du sol sont majoritairement des paramètres microbiens. Les paramètres faunistiques sont moins fréquemment utilisés. Il ressort, également, de cet inventaire et de notre recherche bibliographique que les méthodes à développer et à mettre en place en Wallonie doivent se fonder sur une délimitation aussi claire que possible des objectifs poursuivis par les législateurs.

En considérant, à l'issue de la recherche bibliographique, les critères de pertinence, d'applicabilité et de méthodologie, combinés à l'utilisation de l'indicateur dans des réseaux existants et à la consultation d'ouvrages de référence, nous avons pu mettre en avant six paramètres microbiens pertinents dans le cadre de la qualité des sols wallons, en tenant compte de l'usage agricole, forestier et urbain. Il s'agit de la biomasse microbienne, de paramètres relatifs à l'activité des micro-organismes du sol à savoir la respiration basale et la minéralisation nette de l'azote, et des indices écophysologiques. Nous privilégions plutôt l'étude de la diversité fonctionnelle que celle de la diversité structurelle, car le lien entre la structure de la communauté microbienne et la fonction est encore mal établi. Ces différents paramètres sont d'ailleurs couramment employés/ recommandés comme indicateur biologique de la qualité des sols dans différents programmes de suivi des sols existant. Afin de prendre en considération la recommandation de l'union européenne suggérant d'intégrer des paramètres faunistiques dont l'étude de régulateurs biologiques (nématodes ou collemboles) et d'ingénieurs de l'écosystème (vers de terre) au programme de suivi des sols, nous proposons d'étudier le nombre et la biomasse des vers de terre comme paramètre faunistique, en raison de la simplicité d'étude de ce paramètre en comparaison de la complexité d'étude de la faune du sol au niveau taxonomique. L'application et le développement de politiques dans le cadre du décret relatif à la gestion des sols requièreront la mise en place d'indicateurs (notamment biologique) concernant la qualité des sols. Actuellement, aucune étude belge / wallonne ne concerne l'étude de la qualité des sols de notre pays/région. D'autres pays européens (Pays-Bas, Allemagne, Italie, Tchéquie, la Hongrie, l'Autriche,) ont quant à eux débuté la mise en place du suivi de la qualité des sols faisant intervenir les indicateurs biologiques.

Sur le plan opérationnel des perspectives tracées par le Plan d'Environnement pour le Développement Durable de 1994, qui prévoit « d'améliorer la connaissance et le suivi de la qualité des sols », il ressort de la revue d'état des lieux que la mise en œuvre fonctionnelle d'un réseau de mesures biologique cohérent est un processus lent, qui peut s'étaler sur 10 à 15 années. Cependant, les expériences – notamment en Grande-Bretagne - montrent également que les programmes de monitoring peuvent aussi s'initier de façon relativement simple, avec un nombre limité d'indicateurs et de points de mesure, et se complexifier par la suite en intégrant les résultats des efforts de recherche et pour la standardisation des méthodes. Sur base des éléments fournis conjointement à l'issue du travail d'analyse des indicateurs de la littérature et de l'état des lieux dans les pays et régions voisins, il est possible désormais de définir les principes d'un réseau minimum de démarrage et de définir les bases et méthodes de travail à développer par la suite pour consolider et étendre ce premier réseau.

The Laboratory of Plant and Microbial Ecology of the University of Liege conducted a research of public interest focusing on the assessment of biological indicators for the evaluation of soil quality. This study was funded by the 'Service Public de Wallonie (SPW)'. Data and results are co-owned by the Service Public de Wallonie and the Laboratory of Plant and Microbial Ecology (Prof. M. Carnol), University of Liege.

Research objectives :

The objectives of this project were the assessment of biological indicators to estimate soil quality through :

- A review and synthesis of recent scientific literature on biological soil quality, available methods and conditions of applicability. Particular attention will be paid on indicators relevant to the type of Walloon soils, to common soil management practices and environmental problems encountered in Wallonia (pollution by heavy metals, PAHs, hydrocarbons). This review will improve our knowledge on the relevance of some biological measures as tools for assessing soil quality.
- An inventory of tools used for assessing the biological soil quality in neighbouring countries/regions and their use in management policies and / or soil protection. This inventory aims at exploring and analyzing the political and strategic objectives pursued in each country, the general characteristics of the different existing monitoring networks, the indicators used or suggested, as well as the scientific justification of these indicators.
- An analysis of the appropriateness of the tools identified in the two first objectives to predict the capacity of soils to perform their ecological functions, targeting agricultural, forest and potentially polluted soils.
- An assessment of the sensitivity, reproducibility, possibility of routine use, ease of understanding and cost of the selected tools.
- Suggestions for future research (link to soil policy, research opportunities).

Methods :

For the literature review, we used two relevant databases for life and soil science (ISIWeb of Knowledge and ScienceDirect). Publications related to the assessment of soil quality through biological indicators were consulted in order to synthesize most frequently used indicators and their sensitivity to farm or forestry management, land use or pollution. Data on methodology, reproducibility and interpretability have also been synthesized. The inventory of tools used for assessing the biological quality soil in neighbouring countries/regions (realised by Ram-Ses), was performed through the exploration of technical and specialized publications and by inquiry. Pertinent indicators for the Walloon region were pre-selected through an iterative numerical approach taking into consideration the relevance and applicability of the indicators, their use in existing monitoring networks, and some methodological criteria.

Results :

Based on the definitions of soil quality and biological indicators, we can consider biological indicators of soil quality as organisms or biological processes reflecting a modification of the environment and whose values give information about the capacity of soil to function, within natural or managed ecosystem boundaries, to sustain plant and animal productivity, maintain or enhance water and air quality, and support human health and habitation.

After an inventory of soil biodiversity, we focused on soil characteristics and land use types to define the most relevant combinations of soil type/land use in the Walloon region. Furthermore, we considered the major soil ecosystem services provided by the most frequent land use types in Wallonia for evaluating the capacity of potential indicators to reflect these services through biota and biotic process (with benefits such as the production of food or fiber as well as maintaining a healthy environment).

The inventory of tools used for assessing the biological soil quality in neighbouring countries/regions underlines that several European countries- including the Netherlands, Switzerland, France, the United Kingdom, Germany, Italy, Austria, Hungary, Czech Republic - have followed a broadly similar approach for developing indicators and establishing a monitoring network of the biological soil quality and / or soil biodiversity within a national scope. These approaches proceed by successive stages: definition of the objectives of the monitoring network, suggestion of indicators (literature review), pre-selection of indicators, test of indicators and data acquisition (reference values). The established networks pursue strategic monitoring and / or prevention objectives, as well as scientific objectives such as data acquisition on the biological component of soils and its

specific functions. Currently, only the Netherlands has a functional monitoring network at national level. Networks in other countries are either at the stage of test, or functional at the regional scale.

The integration of the literature review and the inventory in neighboring countries/region, revealed that biological indicators of soil quality are mostly microbial parameters. Faunal parameters are less frequently used. Results also highlighted that the framework for developing a soil monitoring network in the Wallonia requires a clear definition of the objectives pursued by the legislator.

Taking into account the literature review, the criteria of relevance, applicability and methodology, combined with the use of the indicator in existing networks and the consultation of reference books, we highlight six microbial parameters relevant in the context of soil quality in Wallonia, taking into account three major land use types (agriculture, forestry and urban). They are the microbial biomass, parameters related to the activity of soil microorganisms, namely basal respiration and net nitrogen mineralization, and ecophysiological indices. We recommend the study of functional diversity rather than structural diversity, because the link between microbial community structure and function is not yet well established. These parameters are also commonly used or recommended as biological indicators of soil quality in different soil monitoring networks. In line with the recommendations of the European Union, suggesting the integration of faunal parameters such as biological regulators (nematodes or collembola) and ecosystem engineers (earthworms) in soil monitoring programs, we suggest the number and biomass of earthworms, because of its simplicity in comparison to the study of soil fauna in taxonomic level. The application and policy development under the decree on soil management requires the establishment of indicators (including biological indicators) on soil quality. Currently, no Belgian / Walloon study exist on soil quality in our country / region. Other European countries (The Netherlands, Germany, Italy, Czech Republic, Hungary, Austria,) have begun setting up the monitoring of soil quality involving biological indicators.

In relation to operational plans outlined by the 'Plan d'Environnement pour le Développement Durable' (Environmental Plan for Sustainable Development) in 1995, which intends "to improve the knowledge and the monitoring of soil quality", it is clear from the inventory in neighboring countries that the establishment of a functional monitoring network is a slow process, spreading out over 10 to 15 years. However, experience-particularly in Great Britain- also reveals that a monitoring network can be initiated relatively easily, with a limited number of indicators and sampling points, and subsequently become more complex by integrating research results and from method standardization. Based on the evidence provided by the outcome of literature review and the inventory of tools used in neighboring countries, it is now possible to define the basic principles of a first monitoring network and define the basis and working methodology to consolidate and extent this first network.

Table des matières

1. Contexte de l'étude et objectifs	9
2. Diversité biologique des sols.....	11
2.1. La microflore du sol	11
2.1.1. Les eubactéries.....	11
2.1.2. Les archées.....	11
2.1.3. Les champignons	11
2.1.4. Les algues	12
2.2. La faune du sol.....	12
2.2.1. La microfaune.....	13
2.2.2. La mésofaune	14
2.2.3. La macrofaune.....	15
2.3. La chaîne trophique du sol et le rôle des différents composants biotiques sur les processus du sol au sein de l'écosystème	17
3. Concept de qualité des sols et d'indicateurs biologiques de la qualité des sols	20
3.1. La notion de qualité du sol	20
3.2. Notion de bioindicateurs et d'indicateurs biologiques.....	21
4. Caractéristiques et occupations des sols en Wallonie.....	21
4.1. Régions naturelles de Wallonie	21
4.2. Occupations des sols	24
4.2.1. Occupation agricole	24
4.2.2. Occupation forestière	26
4.2.3. Les zones urbanisées.....	27
4.3. Occupation du sol-type d'usage.....	29
5. Sols et services écosystémiques	33
6. Etat des lieux des outils d'évaluation de la qualité biologique des sols existant dans les pays/régions voisin(e)s.....	37
6.1. Introduction	37
6.2. Méthodes.....	37
6.3. Résultats et analyses	39
6.3.1. Vue d'ensemble des différents réseaux de mesure de paramètres biologiques du sol	39
6.3.2. Les objectifs et perspectives stratégiques dans lesquelles s'inscrivent les différents réseaux.....	39
6.3.3. Les indicateurs et principes pour l'interprétation des mesures	41
6.3.3.1. Types d'indicateurs	41
6.3.3.2. Principes d'interprétation des mesures	44
6.3.3.3. Méthodes	46
6.3.4. Principes communs pour le développement de réseaux de mesures intégrant des paramètres biologiques.....	46
6.3.5. Les perspectives tracées à l'échelle de l'U.E.	47
6.3.5.1. Travaux du Groupe de Travail « biodiversité du sol » mis en place dans le cadre des travaux préparatoires au projet de directive cadre sur la protection des sols	48
6.3.5.2. Projet européen ENVASSO	49
7. Synthèse bibliographique des études récentes sur la qualité biologique des sols	51
7.1. Méthodologie	51

7.2. Relevés des indicateurs biologiques employés dans la littérature, méthodologies et sensibilités de ces indicateurs.	52
7.2.1. Les micro-organismes du sol	53
7.2.1.1. La biomasse microbienne	53
7.2.1.2. Activités microbiennes du sol	55
7.2.1.3. Les indices écophysologiques	63
7.2.1.4. Diversité microbienne des sols et structure de la communauté microbienne	64
7.2.2. La faune du sol	68
7.2.2.1. La diversité de la microfaune	68
7.2.2.2. La diversité de la mésofaune	69
7.2.2.3. La diversité de la macrofaune	70
8. Evaluation des outils	71
8.1. Pré-sélection des indicateurs	71
8.2. Fiches descriptives des indicateurs préconisés	77
8.2.1. Fiche descriptive 1 : la biomasse microbienne	79
8.2.2. Fiche descriptive 2 : la respiration du sol	79
8.2.3. Fiche descriptive 3 : la minéralisation nette de l'azote	82
8.2.4. Fiche descriptive 4 : la diversité fonctionnelle	83
8.2.5. Fiche descriptive 5 : la biomasse et l'abondance des vers de terre	83
8.3. Considérations pratiques concernant l'échantillonnage, le stockage et le prétraitement des sols avant les analyses biologiques.	85
8.3.1. Sélection des sites d'études	85
8.3.2. Méthode d'échantillonnage	85
8.3.3. Moment, fréquence et profondeur d'échantillonnage	86
8.3.4. Prétraitement et stockage des échantillons	86
9. Analyse des intérêts, potentialités et limites de l'outil TerraSys dans la perspective de l'évaluation de la qualité biologique des sols	87
9.1. Objet	87
9.2. Description du logiciel TerraSys®	87
9.3. Démarche générale d'une évaluation des risques écotoxicologiques avec TerraSys®	87
9.3.1. La saisie des données	88
9.3.2. La définition du modèle conceptuel de l'écosystème	88
9.3.3. La modélisation	91
9.3.4. L'interprétation des résultats	93
9.4. Analyse des intérêts, des potentialités et des limites du logiciel TerraSys dans la perspective de l'évaluation de la qualité biologique des sols	93
9.4.1. Analyse des limites du logiciel TerraSys® dans la perspective de l'évaluation de la qualité biologique des sols	93
9.4.2. Analyse des intérêts et potentialités du logiciel TerraSys® dans la perspective de l'évaluation de la qualité biologique des sols	95
9.5. Exploration des données disponibles dans TerraSys® pour les micro-organismes du sol, les invertébrés du sol et les invertébrés terrestres et aériens	96
9.6. Synthèse du cadre d'application de TerraSys® et perspectives d'utilisation	101
10. Conclusions et perspectives	105

1. Contexte de l'étude et objectifs

Le présent document est le rapport final reprenant l'ensemble des données acquises au cours de la convention SPW-ULg intitulée « Appréciation des indicateurs biologiques comme outils d'évaluation de la qualité des sols » (avril 2009-novembre 2010).

Le sol est un composant essentiel de la biosphère terrestre et, en raison de sa position d'interface, il assure de nombreuses fonctions environnementales. Il est à la base de la production végétale, puisqu'il sert d'ancrage, de ressource en eau et en éléments nutritifs aux végétaux. Il joue un rôle prépondérant dans le stockage de carbone, la décomposition de la matière organique, les cycles biogéochimiques des éléments (C, N, P, ...), l'épuration vis-à-vis des ressources en eau et la dégradation et/ou l'immobilisation des polluants (van Bruggen et Semenov, 1999 ; Arrouays *et al.*, 2003). De plus, il constitue un important réservoir de biodiversité encore largement méconnu. En considérant le sol comme une ressource naturelle essentielle et en prenant en compte son caractère de ressource non renouvelable à l'échelle des générations humaines, la protection du sol doit s'imposer comme une préoccupation nationale et internationale.

Depuis 1980, plusieurs pays (9 Etats membres de la Communauté Européenne, en septembre 2006) ont introduit une législation relative à la protection des sols. Le 19 novembre 2003, le parlement européen a adopté une résolution visant à développer des réglementations européennes axées sur l'utilisation durable des sols. Cette résolution est basée sur une communication de la commission européenne intitulée «Vers une stratégie thématique pour la protection des sols » (COM (2002) 179). Une proposition de directive du Parlement européen et du Conseil définissant le cadre pour la protection des sols a été publiée le 22/09/2006 (COM(2006) 232 final). Elle a cependant été rejetée par plusieurs pays et n'a donc pas pu être adoptée par le Conseil de l'environnement. En Région wallonne, le projet de décret relatif à la gestion des sols a été adopté en deuxième lecture par le Gouvernement wallon le 22 mai 2008. L'application et le développement de ces politiques requièrent des données scientifiques, ainsi que des indicateurs, concernant la qualité des sols.

Depuis des décennies, l'intensification des pressions anthropiques subies par les sols (pollutions diverses, agriculture intensive, ...) provoque des modifications à long terme de ceux-ci. Les huit principales menaces qui pèsent sur les sols de l'Union européenne définies dans la communication de la commission européenne (COM(2002) 179) sont : l'érosion, la diminution des teneurs en matière organique, la contamination, la salinisation, le tassement du sol, **l'appauvrissement de la biodiversité** du sol, l'imperméabilisation des sols, les inondations et les glissements de terrain. Il est aujourd'hui nécessaire de développer des systèmes de gestion qui allient la production de ressources nécessaires (nourriture, bois, fibre, ...) au maintien d'un sol de qualité, capable d'assurer ses fonctions sur le long terme.

La qualité des sols est définie comme la *«capacité continue des sols à fonctionner comme un système vivant, dans les limites des écosystèmes, pour soutenir la productivité biologique, maintenir la qualité de l'environnement et promouvoir la santé des végétaux et des animaux »* (Doran *et al.*, 1996). Evaluer la qualité des sols est nécessaire pour gérer de manière parcimonieuse et avec discernement l'affectation des sols, et suivre la durabilité des mesures de gestion mises en oeuvre. Il est nécessaire de disposer d'un cadre et de standards de la qualité des sols afin de surveiller les changements dans la qualité de l'environnement suite aux mesures de gestion (pratiques agricoles et forestières), au développement touristique et urbain ou à d'éventuelles pollutions, et d'aider les organismes gouvernementaux dans la formulation et l'évaluation des politiques émises dans le cadre de la protection des sols (Doran et Safley, 2002).

La compréhension des modifications subies par les sols nécessite des approches physiques, chimiques et biologiques. En effet, alors que des indicateurs chimiques nous informent p.ex. de la présence/disparition de polluants, ils ne donnent aucune information sur la qualité biologique du sol. Or, les organismes du sol jouent un rôle essentiel dans le fonctionnement de celui-ci. Ils interviennent dans des processus clé comme la dégradation de la matière organique, la minéralisation fournissant les éléments nutritifs, la régulation des populations microbiennes, la structure du sol. Macro-, méso- et microfaune, ainsi que les micro-organismes agissent dans ces processus à des niveaux de résolution spatiale divers. De plus, les organismes du sol fournissent une mesure de la qualité biologique du sol qui intègre des paramètres physiques, chimiques et biologiques. Alors qu'il existe de nombreux travaux sur des indicateurs physiques et chimiques de la qualité des sols, les approches globales utilisant des indicateurs biologiques sont rares, peu développées et pas appliquées en Région wallonne. La transposition d'outils existants, développés pour des situations spécifiques,

nécessiterait de toute façon une adaptation aux conditions rencontrées en Région wallonne (type de sol, valeurs de référence, etc.).

Dans le cadre de la conception de politiques de protection de la biodiversité, et d'études visant à caractériser les communautés d'organismes de sols, certains pays ont développé des approches pour déterminer la qualité biologique des sols. Par exemple, en Allemagne, le concept BBSK (all.: Bodenbiologische Standortklassifikation) a été développé initialement à partir d'une revue de littérature réalisée afin de classer les communautés des sols forestiers. Il a ensuite été sélectionné comme outil prometteur dans l'acte fédéral pour la protection des sols (BBodSchG, 1998). Dans cette approche, les paramètres qualitatifs sont jugés plus intéressants que les paramètres quantitatifs et la biodiversité est l'outil d'évaluation final majeur. Des pistes d'amélioration suggèrent l'inclusion de paramètres microbiologiques. Aux Pays-Bas un 'Biological Indicator for Soil Quality' (BISQ) a été développé. Cependant, les connaissances scientifiques actuelles sur la biodiversité des sols et son évolution ont été jugées trop limitées pour être incluses dans la proposition de directive du Parlement européen et du Conseil définissant le cadre pour la protection des sols.

Afin de pouvoir répondre aux exigences en termes de qualité biologique du sol (en développement au niveau européen), un état des lieux pour des sols wallons s'avère nécessaire. Ceci nécessite au préalable l'établissement d'un état des lieux des outils d'application dans les pays voisins, des recherches récentes dans ce domaine et la sélection d'indicateurs biologiques pertinents. Les indicateurs de la qualité du sol doivent être sensibles aux variations environnementales, faciles à mettre en œuvre, aisément interprétables et utilisables en routine à un coût acceptable. En fonction de ces critères, il est nécessaire de sélectionner des indicateurs pertinents pour les types de sol, les pratiques courantes de gestion et les pollutions rencontrées en Région wallonne. Outre leur apport en matière de gestion de l'affectation des sols, les indicateurs biologiques de la qualité du sol pourraient être des outils intéressants pour le suivi et l'évaluation de la performance d'assainissement de sites pollués et l'évaluation de la survie de micro-organismes ajoutés lors de la bioaugmentation pour la dépollution d'un composant spécifique.

Cet inventaire doit constituer une première approche, avant d'affiner la sélection en fonction des méthodologies disponibles. Les indicateurs pertinents identifiés dans cette étude pourraient ensuite être testés sur différents types de sol représentatifs de notre Région et sous différentes conditions de pollution. Cette approche résulterait *in fine* en l'établissement de stratégies de suivi et de monitoring de la qualité biologique des sols en Région wallonne.

Les **objectifs** de ce projet sont l'appréciation d'indicateurs biologiques, parmi lesquels des indicateurs de biodiversité, permettant d'évaluer la qualité des sols, en réalisant :

1. Une recherche et synthèse bibliographique des études récentes sur la qualité biologique des sols, des techniques de mesure disponibles et de leurs conditions d'applications. Une attention particulière sera portée sur les indicateurs adaptés aux types de sols wallons, aux pratiques courantes d'utilisation et de gestion des sols et aux problèmes environnementaux auxquels la Région est le plus souvent confrontée (pollution par les métaux lourds, les HAP, les hydrocarbures). Cette synthèse permettra d'améliorer nos connaissances sur la pertinence de certaines mesures biologiques comme outil d'évaluation de la qualité des sols.
2. Un état des lieux des outils d'évaluation de la qualité biologique des sols dans les pays/régions voisins et de leur utilisation dans le cadre de politiques de gestion et/ou de protection des sols. Cet état des lieux a pour but d'explorer et d'analyser le cadre politique ainsi que les objectifs stratégiques poursuivis dans chacun des pays, les caractéristiques générales des différents réseaux existants, les indicateurs mis en œuvre ou suggérés, ainsi que les bases scientifiques justifiant le choix de ces indicateurs.
3. Une analyse de l'aptitude des outils identifiés aux points 1 et 2 à prédire la capacité des sols à remplir leurs fonctions écologiques, en ciblant trois domaines d'action de ces outils: sols forestiers, sols agricoles et les sols potentiellement pollués.
4. Une évaluation des outils identifiés aux points 1 et 2 selon les critères suivants : sensibilité, reproductibilité, possibilité d'utilisation en routine, facilité d'interprétation, coût.

5. Propositions pour la suite des travaux de recherche (liens avec la politique des sols, perspectives de recherche).

2. Diversité biologique des sols

2.1. La microflore du sol

La microflore des sols est constituée de micro-organismes procaryotes (eubactéries, archées) ou eucaryotes (champignons, algues). Ces micro-organismes sont impliqués dans les cycles biogéochimiques des éléments (carbone, azote, phosphore...) et sont également capables d'interactions directes avec les plantes.

2.1.1. Les eubactéries

Les **eubactéries** sont des organismes unicellulaires procaryotes, c'est-à-dire caractérisés par l'absence de certains organites entourés par une membrane, tels le noyau, les chloroplastes et les mitochondries. Les cellules procaryotes possèdent cependant des ribosomes non inclus dans une membrane. Le génome des cellules procaryotes se présente sous forme d'une molécule double brin appelé chromosome bactérien agrégé afin de former une masse appelée nucléoïde.

Les **eubactéries** mesurent quelques millimètres de long et ont différentes formes. Il y a les coques (de forme sphérique), les bacilles (en forme de bâtonnets) et il y a des formes plus ou moins spiralées. Les bactéries sont ubiquistes et sont observées dans tous les types de biomes terrestres. Elles sont très abondantes, on peut observer jusqu'à 40 000 000 de bactéries dans un gramme de sol. Dans les sols, les bactéries autotrophes et hétérotrophes jouent un rôle prépondérant dans certains cycles biogéochimiques, notamment ceux du phosphore, du soufre, de l'azote et du carbone. Au moins 18 embranchements majeurs d'eubactéries sont établis à partir des cultures bactériennes et d'autres ont été identifiés sur base de séquences isolées à partir de l'environnement. Les embranchements majeurs sont les suivants : les *Proteobacteria*, les *Actinobacteria*, les bactéries *Gram-positives*, les *Cyanobactéria* (et prochlorophytes), les *Chlamydia*, les *Planctomyces*, les *Verrucomicrobia*, les *Flavobactéria*, les *Cytophaga*, les bactéries vertes sulfureuses, les *Spirochètes*, les *Deinococci*, les bactéries vertes non-sulfureuses, les bactéries hyperthermophiles, les *Nitrosopira* et *Deferribacter*. En raison de leur implication dans la décomposition de la matière organique, dans les cycles biogéochimiques, les bactéries pourraient être considérées comme indicateurs potentiels de la qualité des sols. A la fois l'étude des processus qu'elles régulent (par exemple, la minéralisation de l'azote, celle du carbone, la nitrification) et leur diversité peuvent être employées comme indicateurs de la qualité des sols. Par exemple, au Pays-Bas, la nitrification et leur diversité fonctionnelle ont été retenues comme indicateurs de la qualité du sol (cfr rapport annexe, chapitre 3.1.1.3).

2.1.2. Les archées

Les **archées** sont des micro-organismes unicellulaires procaryotes qui diffèrent des **eubactéries** par l'absence de peptidoglycane dans leur paroi cellulaire, par la présence d'ARN polymérases plus complexes et par la structure lipidique de leur membrane. Les **archées** présentent des formes similaires à celles des eubactéries. Cependant, quelques espèces présentent des formes différentes : plates et carrées. Les archées ont la capacité de vivre dans des milieux extrêmes (alcalophiles, acidophiles, halophiles, thermophiles). Les archées sont divisées en quatre embranchements : les *Crenarchaeota*, les *Euryarchaeota*, les *Nanoarchaeota*, les *Korarchaeota*. En raison de leur rôle dans les cycles biogéochimiques (C, S,...), certaines archées peuvent être considérées comme indicateur potentiel de la qualité des sols.

2.1.3. Les champignons

Les **champignons** sont des organismes unicellulaires (levures) ou pluricellulaires (moisissures et macromycètes) eucaryotes. Les cellules eucaryotes sont caractérisées par la présence d'organites entourés par une membrane, tels le noyau, les chloroplastes, les ribosomes et les mitochondries. Ils sont hétérotrophes et ils se nourrissent par absorption. Les champignons sont formés d'un appareil végétatif appelé thalle, constitué de cellules cloisonnées et allongées, dites hyphes. Ces hyphes s'associent pour former le mycélium. L'habitat des champignons est diversifié mais la plupart sont terrestres. Les champignons sont classés en six embranchements : les *Ascomycota*, les *Basidiomycota*, les *Deuteromycota*, les *Chytridiomycota*, les *Glomeromycota*, les *Zygomycota*. Les levures sont des champignons unicellulaires et la plupart d'entre-elles sont des Ascomycètes. Les cellules des levures sont typiquement sphériques, cylindriques ou ovales. La plupart des levures sont des aérobies facultatifs, pouvant réaliser la fermentation. Les moisissures sont des champignons pluricellulaires filamenteux. Ce sont des aérobies obligatoires. Les macro-champignons sont des basidiomycètes filamenteux. Durant la plus grande partie de leur existence, ils se trouvent sous la forme de mycélium mais, lorsque les conditions sont favorables (pluies, température plus fraîche), le carpophore se

développe. Certains Zygomycètes, Ascomycètes, Basidiomycètes peuvent former des associations symbiotiques avec des plantes appelées mycorhizes. Les champignons peuvent être employés comme indicateurs de la qualité du sol, en raison de leur rôle dans la décomposition de la matière organique et le cycle des éléments nutritifs. Les mycorhizes arbusculaires peuvent être utilisées comme indicateur de la qualité des sols car elles favorisent la disponibilité des nutriments pour les plantes.

2.1.4. Les algues

Les **algues** sont des organismes eucaryotes. Les **algues** sont soit unicellulaires, soit pluricellulaires. Les algues les plus simples sont des organismes unicellulaires flagellés, mais des formes coloniales et non-mobiles se sont développées. Les niveaux d'organisation les plus courants sont les suivants : colonial (petit groupe ordinaire de cellules mobiles), capsöïde (cellules non-mobiles incluses dans une capsule de mucilage), coccoïde (cellules individuelles non-mobiles avec des parois cellulaires), palmelloïde (nombreuses cellules non-mobiles incluses dans le mucilage), filamenteux (un grand nombre de cellules non-mobiles connectées ensemble, quelquefois ramifiées), membraneux (cellules formant un thalle avec une différenciation partielle des tissus). On distingue onze groupes : les Chlorophytes (algues vertes), les Rhodophytes (algues rouges), les Glaucophytes, les Cryptophytes, les Chrysophytes (algues dorées), les Euglenophytes, les Chlorarachniophyceae, les Haplophytes, les Phaeophytes (algues brunes), les Dynophytes. Les algues sont caractérisées par la présence de chlorophylle et de chloroplaste, leur permettant la photosynthèse et l'autotrophie. La plupart des algues vivent en milieu aquatique mais on en observe à la surface du sol ou dans les deux trois premiers cm du sol. Comme les algues peuvent se contenter de faibles intensités lumineuses, elles peuvent avoir un comportement autotrophe actif dans les premiers millimètres du sol. Dans les sols, on trouve des algues vertes (sous-embranchement *Chlorophyta*) ainsi que des algues brunes dorées et des diatomées (embranchement *Chrysophyta*). Les algues sont rarement utilisées comme indicateurs de la qualité biologique des sols.

2.2. La faune du sol

La faune du sol est diverse et nombreuse. Elle peut être caractérisée par l'abondance relative des animaux dans le sol. La faune du sol comporte des organismes qui passent toute leur vie dans le sol (faune du sol permanente) et d'autres qui passent seulement une partie de leur vie dans le sol soit en fonction des différents stades de développement (faune du sol temporaire (stade œuf et juvénile dans le sol) ou éphémère (avant la ponte)), soit selon les conditions environnementales (faune du sol périodique) (Fig. 2.1.).

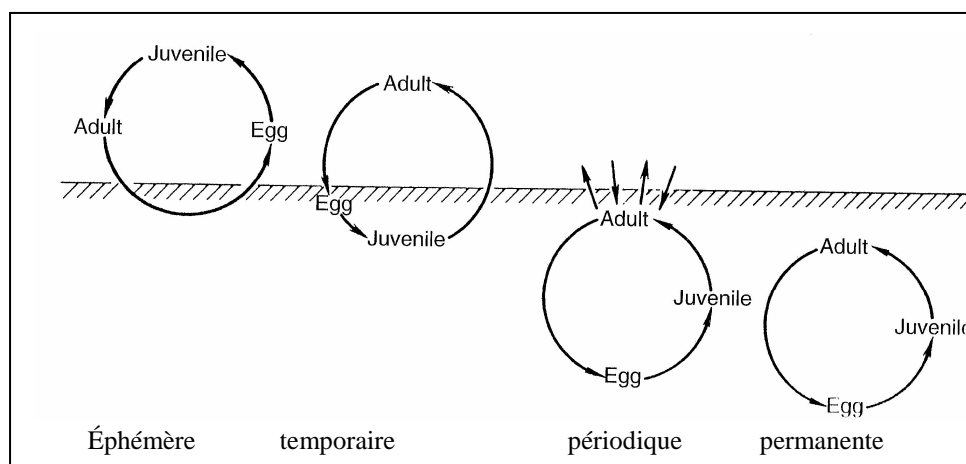


Figure 2.1. Caractéristiques de la faune du sol selon son degré de présence dans les sols (d'après Wallwork, 1970).

Une classification générale de la faune du sol basée sur la taille des organismes (Fig. 2.2.) est communément employée pour diviser la faune du sol en quatre classes distinctes : la microfaune, la mésofaune, la macrofaune et la mégafaune. D'après la classification de Swift *et al.* (1979), la **microfaune** comprend les animaux dont la taille est inférieure à 100 µm, il s'agit de protozoaires, de certains rotifères et nématodes. Ils occupent les films d'eau présents dans le sol. La **mésofaune** comprend des animaux dont la taille varie entre 0.1 mm et 2 mm. Elle est constituée des microarthropodes comme les acariens (arthropodes), collemboles, protoures, diploures, isoptères (arthropodes hexapodes) et symphyles (arthropodes myriapodes), de tardigrades ainsi que d'enchytréides (annélides). La mésofaune occupe les pores aérés du sol et vit dans les pores existant dans le sol. La **macrofaune** comprend des organismes dont la taille varie de 2 mm à 20 mm. On retrouve dans cette

catégorie les macroarthropodes tels les isopodes et amphipodes (arthropodes crustacés), chilopodes et diplopodes (arthropodes myriapodes), les coléoptères (arthropodes hexapodes), et les araneida (arthropodes chelicerates) ainsi que des oligochètes (annélides) et des gastéropodes. Comparé à la mésofaune, les organismes appartenant à la macrofaune peuvent créer leur espace, grâce à leurs activités de fousseurs. Ils peuvent d'ailleurs comme la mégafaune influencer la structure du sol. Les différences de taille importante entre les organismes suggèrent que leurs effets sur les processus du sol sont observables à des échelles spatiales diverses.

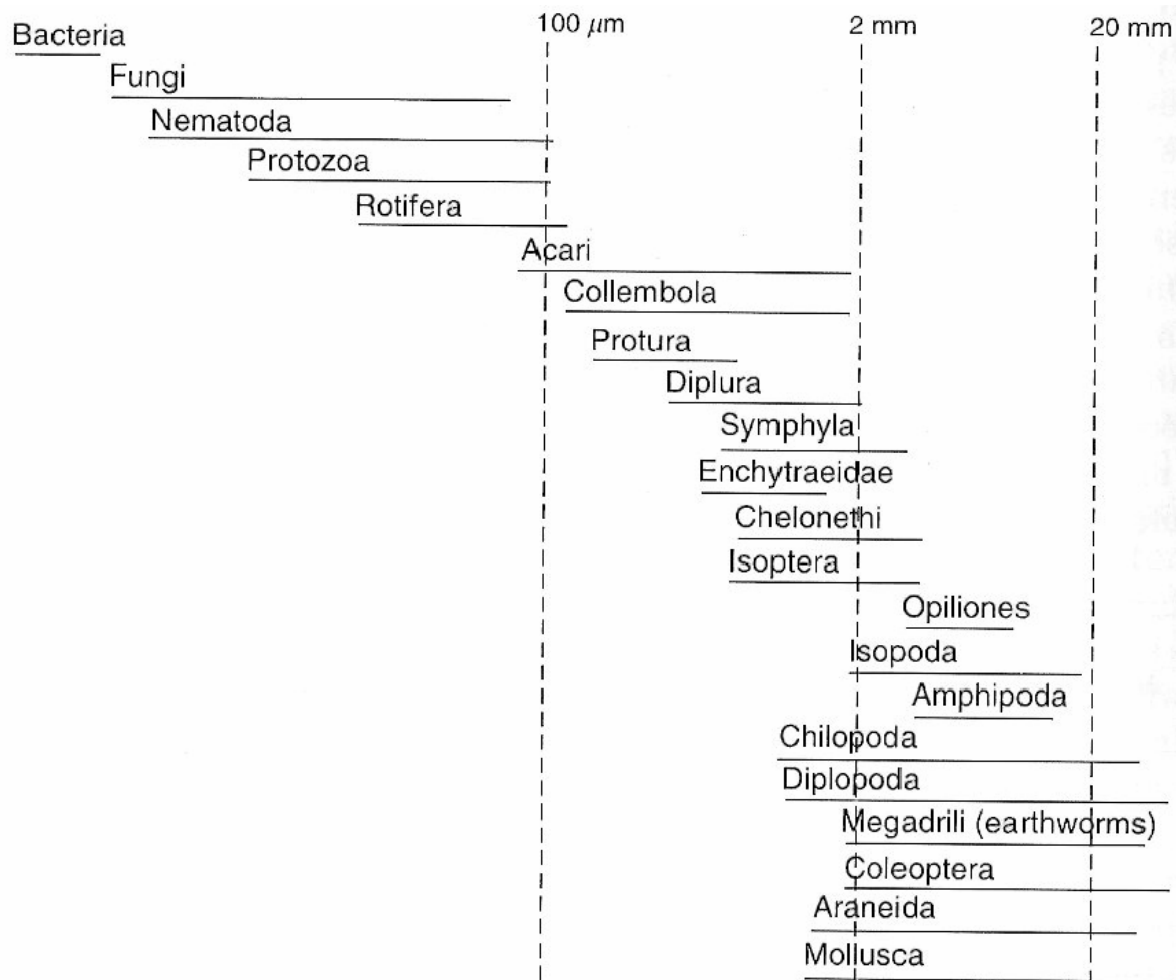


Figure 2.2. Classification par taille des organismes de la chaîne trophique (d'après Swift *et al.*, 1979)

2.2.1. La microfaune

La microfaune du sol est constituée de protozoaires, nématodes et rotifères. Les **protozoaires** sont des organismes eucaryotes unicellulaires de 5 à 500 µm de diamètre. Leur mode de nutrition se fait par ingestion (phagocytose ou cytopharynx) et ils se nourrissent de bactéries et de petites particules organiques. Les protozoaires sont principalement distribués dans la couche supérieure du sol (quelques cm de profondeur). Les **protozoaires libres** vivant dans la litière et le sol appartiennent à deux phylums : les Sarcomastigophora et les Ciliophora. La systématique est basée sur la nature de l'appareil locomoteur et sur les caractéristiques de développement. Nous les définirons en trois classes écologiques : les **flagellés**, les **rhizopodes** (nus ou munis d'une thèque) et les **ciliés**. Les **flagellés** possèdent un ou plusieurs flagelles. Ce sont les plus nombreux et les plus actifs des protozoaires. Ils jouent un rôle prépondérant dans le cycle des éléments nutritifs et se nourrissent principalement de bactéries. Les **rhizopodes** possèdent des pseudopodes locomoteurs et préhensibles. On trouve dans cette classe les amibes nues ou munies d'une thèque. Les amibes nues sont les plus voraces des protozoaires, et elles sont très nombreuses aussi bien dans les sols agricoles, forestiers que dans les prairies. Les amibes munies d'une thèque sont moins nombreuses que les amibes nues, excepté dans les sols forestiers humides. Les amibes se nourrissent par phagocytose et elles ingèrent des bactéries, des champignons et des algues. Les **ciliés** semblent être restreints aux milieux humides. Ils sont moins nombreux que les autres protozoaires mais présentent le degré d'organisation cellulaire le plus élevé. Les protozoaires

peuvent augmenter la croissance des plantes en induisant la production de certains composés. En raison de leurs interventions dans le cycle des éléments nutritifs, de leur influence sur la population microbienne, de leur impact sur la croissance végétale, les protozoaires sont de potentiels indicateurs de la qualité des sols.

Les **nématodes** sont parmi les plus nombreux organismes multicellulaires trouvés dans des écosystèmes variés. Ils occupent, comme les protozoaires, les films d'eau présents dans le sol ou les pores du sol remplis d'eau. Les **nématodes** sont de petits vers transparents dont la longueur varie de 50 μm à 1 mm. Ils se nourrissent de bactéries, champignons, algues et protozoaires. Ils vivent principalement dans la rhizosphère des plantes et sont très sensibles aux variations d'humidité. Comme les nématodes jouent un rôle dans la minéralisation et la disponibilité des nutriments pour les plantes, leur diversité et leur densité peuvent être employées potentiellement comme indicateurs de la qualité des sols.

Les **rotifères** sont inféodés aux milieux très humides et se nourrissent d'algues et de bactéries. Leur taille varie de 50 μm à 1 mm. Plus de 90% des rotifères du sol appartiennent à l'ordre des *Budelloidea*. Ce sont des organismes rampants qui utilisent leurs couronnes ciliaires pour la locomotion. Dans la littérature, les rotifères sont rarement employés comme indicateur de la qualité des sols.

Les protozoaires ainsi que les nématodes sont sensibles aux variations environnementales et des altérations dans leurs activités et distributions pourraient être signe de changement de la qualité du sol.

2.2.2. La mésofaune

Une partie de la mésofaune est constituée des **microarthropodes**. Les microarthropodes sont présents dans de nombreux types de sols. Ils se nourrissent de champignons et de nématodes. La densité des microarthropodes fluctue selon les saisons et le type de sol. Les sols forestiers tempérés où la matière organique s'accumule en contiennent un grand nombre, alors que les sols tropicaux où la couche de matière organique est mince en contiennent moins. Les microarthropodes influencent les processus de décomposition, particulièrement dans les sols forestiers.

Parmi les microarthropodes, les **collemboles** sont aussi nombreux que les acariens. Ils sont distribués à travers le monde, dans tous les types de biomes. Ce sont des hexapodes, sans ailes et dont la taille peut varier de 0.5 à 8 mm de long. Les collemboles ont six ou moins de segments abdominaux. Ils occupent l'entièreté de la partie supérieure des sols et présentent une distribution agrégée dans le sol. Leur nutrition consiste exclusivement en champignons avec parfois ingestion de débris végétaux ou animaux. La systématique des collemboles a mis en évidence la présence de différents ordres. L'ordre des **Podurumorpha** et celui de **Entomobryomorpha** regroupent les collemboles ayant un corps allongé. L'ordre des **Symphyleona** groupe les collemboles qui ont un corps globulaire. Les collemboles ont un impact important sur la minéralisation de l'azote, sur la croissance des plantes, sur la respiration et le lessivage du carbone organique dissous. Ils ont donc une influence sur certains processus du sol. Leur diversité et leur abondance peuvent donc potentiellement servir d'indicateur de la qualité des sols.

Les **acariens** sont les plus abondants des arthropodes dans de nombreux types de sol. Ils vivent dans des milieux où l'azote est abondant. Ce sont de petits arachnides dont la taille peut varier de 1 à 5 mm. Ce sont essentiellement des fongivores ou des détritivores, ou les deux. Quatre sous-ordres d'acariens sont fréquemment observés dans les sols : les oribatides, les prostigmates, les mésostigmates et les astigmates. Les **oribatides**, les **prostigmates** et les **mésostigmates** ont une distribution ubiquiste : on les trouve dans tous les écosystèmes terrestres, de l'arctique au tropique, et des forêts au désert. Les oribatides se nourrissent de champignons, de matière végétale en décomposition ou des deux et peuvent affecter la décomposition de la litière ainsi que la dynamique des éléments nutritifs dans les sols forestiers, surtout de façon indirecte en agissant sur les populations microbiennes. Les prostigmates se nourrissent de champignons, d'algues, de détritus végétaux mais ce sont aussi des prédateurs (des nématodes, des collemboles) et des parasites. La plupart des mésostigmates sont des prédateurs et se nourrissent de petits arthropodes ou de nématodes.

Peu de données sont disponibles quant à l'impact des prostigmates et des mésostigmates sur les processus du sol, cependant ils pourraient influencer les processus du sol indirectement via leurs impacts sur les autres populations du sol. Les **astigmates** sont les moins communs des acariens dans les sols mais leur nombre peut s'accroître dans certains habitats. La majorité des astigmates se nourrissent de micro-organismes, de champignons, d'algues et de débris végétaux et peuvent également indirectement influencer les processus du sol.

En plus des collemboles et des acariens, d'autres microarthropodes sont observés dans les sols mais ils sont moins abondants. Parmi ceux-ci, il y a les **protoures**, les **diploures**, les **symphyla**. Les **protoures** et les **diploures** sont des arthropodes du sous-embranchement Hexapoda. Les **protoures** sont de petits arthropodes primitifs, au corps dépigmenté, dépourvu d'ailes, d'antennes et d'yeux. Ils occupent une grande variété de sols souvent en association avec les racines des plantes ou la litière. On peut les trouver jusqu'à 25 cm de profondeur bien qu'ils ne semblent pas adaptés au fouissement. Ce sont plutôt des prédateurs mais certaines espèces sont herbivores. Les **diploures**, qui sont également des insectes primitifs, aux corps allongés, pourvus de longues antennes et de 2 appendices abdominaux (cerques). La plupart se nourrissent de débris végétaux mais certains sont prédateurs, et se nourrissent alors de nématodes, collemboles,... Les **symphyles** sont des arthropodes du sous-embranchement Myriapode. Ils sont petits (2-10mm), ont un corps non pigmenté, dépourvu d'yeux et muni de douze paires de pattes. Ils font partie de la faune édaphique et on peut en trouver jusqu'à 50 cm de profondeur. On peut en observer dans les forêts, les prairies ou les terres de culture. Ils sont omnivores et se nourrissent de tissus animal ou végétal, de graines. En raison de leur moindre abondance, ces organismes sont peu utilisés comme indicateurs de la qualité du sol.

Les **enchytréides** sont une famille importante d'oligochètes. Ce sont de petits (10-20 mm de long) vers non pigmentés. Il y a 600 espèces réparties en 28 genres. Les espèces de 19 genres sont édaphiques. Ils sont fréquents dans les sols de zones tempérées, où ils sont communément trouvés dans les sols forestiers riches en matière organique. Ils ingèrent des particules organiques et minérales, pré-colonisées par des champignons ou des bactéries. Ils sont très abondants dans les sols : de 10000 à 100000 par mètre carré et plus particulièrement dans les sols tourbeux et organiques. Les enchytréides influencent la dynamique de la matière organique dans les sols ainsi que la structure physique des sols. En effet, ils influencent la structure du sol en produisant des fèces qui peuvent accroître l'agrégation du sol. La porosité du sol et la continuité des pores augmentent avec la taille du corps des enchytréides. L'ingestion de bactéries et de champignons par les enchytréides peut accroître le turnover métabolique microbien, et ainsi accélérer la libération des nutriments à partir de la biomasse microbienne. En raison de leur influence sur la structure du sol et sur le turnover bactérien, les enchytréides ont été retenus au Pays-Bas (cfr rapport annexe, chapitre 3.1.1.3) comme indicateur de la qualité du sol pour les fonctions de décomposition de la matière organique et pour la formation de la structure du sol.

Les **tardigrades** sont de petits animaux multicellulaires dont la taille varie de 50 à 1200 µm. Ils possèdent quatre paires de pattes munies de griffes. Ils ont la particularité d'être très sensibles à la pollution. On les retrouve dans les couches supérieures du sol (1-10 cm) où ils sont très abondants (200 à 1000/mètre carré). Ils se nourrissent surtout de mousses, lichens et hépatiques mais ils peuvent aussi se nourrir de nématodes. Par leur impact sur les populations du sol et en raison de leur sensibilité à la pollution, les tardigrades pourraient servir d'indicateurs de la qualité du sol. Cependant, dans la littérature, aucune utilisation des tardigrades comme indicateur de la qualité du sol n'a été observée.

2.2.3. La macrofaune

Les plus grands insectes tels les araignées, les myriapodes par exemple, sont regroupés sous le terme **macroarthropodes**. La taille de leur corps varie de 10 mm à 15 cm. Les macroarthropodes comparés aux microarthropodes affectent la structure du sol. La plupart des macroarthropodes font partie des « cryptozoaires », c'est-à-dire qu'ils vivent sous les pierres, sous les bois morts, les écorces, ou dans les fissures et crevasses. Les macroarthropodes influencent le fonctionnement de l'écosystème en mélangeant les différentes couches du sol, en influençant les populations de microarthropodes ou en affectant les processus de décomposition. Parmi les macroarthropodes, on retrouve les isopodes, les diplopodes, les chilopodes, les araignées, les coléoptères et les hyménoptères.

Les **isopodes** sont des arthropodes du sous-embranchement Crustacé vivant typiquement sous les pierres, sous les écorces, dans les crevasses, les interstices car ils ne supportent pas la dessiccation (absence de carapace). Leur taille peut varier de 0.5 mm à 50 cm. Ils sont herbivores, détritivores, carnivores ou parasites. La systématique des isopodes comprend 10 sous-ordres. Bien que la plupart des isopodes soient marins, il existe des formes dulcicoles (*Aselles*) et même des formes terrestres (*cloportes*). Un sous-ordre bien connu est celui des **Oniscidea (cloportes)** caractérisé par la présence d'un exosquelette rigide. Ce sont des détritiphages qui s'alimentent seulement de la matière végétale morte et participe donc à la décomposition de celle-ci. Dans la littérature, les isopodes ont été utilisés comme indicateurs de la qualité du sol (Aspetti *et al.*, 2009).

Les **diplopodes** (millipèdes ou mille-pattes) sont des arthropodes du sous-embranchement Myriapode. Ce sont des organismes très largement distribués mais qui sont inféodés au milieu humide car ils leur manquent une grande partie de leur épicuticule. Ils vivent sous les pierres, dans le sol, dans les bois morts et en décomposition. Leur taille varie de 5 à 20 cm. Ils sont herbivores, détritivores, saprophages, mycophages et certains sont des coprophages obligatoires. D'un point de vue systématique, on distingue 16 familles. Comme les vers de terre mais de façon moins profonde, ils contribuent à la formation de l'humus, ainsi qu'à l'aération du sol et au brassage de ses couches. Dans la littérature, les diplopodes sont utilisés comme indicateurs de la pollution du sol (Nahmani et Rossi, 2003) ou comme indicateurs de la qualité du sol (Aspetti *et al.*, 2009).

Les **chilopodes** (centipèdes) sont des arthropodes du sous-embranchement Myriapode. Ils sont très répandus mais ils supportent mal la dessiccation. Les chilopodes sont des organismes au corps allongé, plat. La plupart d'entre eux sont d'assez petites tailles mais quelques géants peuvent atteindre ou dépasser 30 cm de longueur (Scolopendromorpha tropicaux). Tous les chilopodes sont des prédateurs (collemboles, myriapodes notamment) mais ils peuvent ingérer occasionnellement de la litière. D'un point de vue systématique, cinq ordres sont reconnus : Scolopendromorpha, Scutigermorpha, Lithobiomorpha, Geophilomorpha et Craterostigmomorpha, incluant plus de 20 familles et presque 3000 espèces. Les chilopodes sont employés comme indicateurs de la qualité du sol dans la littérature (Aspetti *et al.*, 2009).

Les **araignées** sont des arthropodes du sous-embranchement Chelicerates. Elles sont communes à tous les environnements terrestres, excepté ceux des régions arctique et antarctique. Certaines araignées vivent à la surface du sol et dans la litière. Elles possèdent toutes huit pattes, pas d'ailes, ni d'antennes, ni de pièces masticatrices dans la bouche. Leur taille peut varier de 0.5 mm à 30 cm. D'ailleurs, certaines petites araignées vivant dans la litière peuvent être considérées comme des microarthropodes. En tant que prédatrices, les araignées jouent un rôle majeur dans la régulation des populations d'insectes. Il y a plus de 100 familles dans cet ordre, divisés en différents sous-ordres. Les araignées peuvent être utilisées comme indicateurs de la qualité du sol (Aspetti *et al.*, 2009).

Les **coléoptères** sont des arthropodes du sous-embranchement des Hexapodes et ils sont ptérygotes (munis d'ailes). Ils possèdent en fait deux paires d'aile. La paire antérieure colorée et épaisse, appelée élytre et la paire postérieure membraneuse et repliée sous les élytres au repos. Certains sont des résidents permanents du sol mais d'autres sont des résidents temporaires du sol. Certaines espèces sont prédatrices, saprophages ou phytophages. Leur taille varie de 0.5 à 15 cm. D'un point de vue systématique, on distingue 4 sous-ordres : les Adepaga, les Archostemata, les Myxophaga et les Polyphaga regroupant ensemble plus de 300000 espèces. Le sous-ordre des Polyphaga est le plus grand des sous-ordres des coléoptères, il comprend notamment les scarabés, les coccinelles, les géotrupes et les chrysomèles (doryphores). Au sein du sous-ordre Adepaga, on trouve notamment les carabes. Les coléoptères sont particulièrement actifs dans les premières étapes de décomposition du bois, et jouent un rôle primordial dans la décomposition des animaux. Les coléoptères peuvent potentiellement être employés comme indicateurs de la qualité des sols et ont déjà été utilisés comme tels dans la littérature (Aspetti *et al.*, 2009).

Les **hyménoptères** sont des arthropodes du sous-embranchement Hexapode et ils sont également ptérygotes. Ils sont munis de quatre ailes membraneuses. Cet ordre comprend deux familles d'arthropodes du sol très importantes : les fourmis et les guêpes habitant le sol. Les fourmis influencent largement la structure du sol. Les guêpes ont également une influence en faisant leur nid dans le sol. Ce sont des prédateurs de nombreux petits invertébrés. Les fourmis ont un impact important sur leur écosystème. En effet, leur activité réduit celles d'autres prédateurs (araignées, carabes par ex.) et elle modifie la structure du sol en déplaçant des volumes importants de sols. Potentiellement, en raison de leurs effets sur la structure du sol et de leurs impacts sur les autres populations, les hyménoptères peuvent servir d'indicateurs de la qualité du sol (i.e. Aspetti *et al.*, 2009).

Les **oligochètes** (vers de terre) sont classés dans l'embranchement des Annélides. Ce sont les organismes les plus importants par rapport au processus du sol. Leur importance résulte de leur influence sur la structure du sol (formation d'agrégats, de pores) et sur la décomposition de la matière organique (fragmentation, enfouissement et mélange des débris végétaux). Ce sont des organismes au corps segmenté, d'une longueur pouvant varier de quelques millimètres à plus d'un mètre. Plus de 3500 espèces de vers de terre ont été décrites et il y en aurait davantage encore. La systématique révèle l'existence de 16 familles dont 10 comprennent des formes terrestres. Les espèces de la famille des Lumbricidae et des Megascolecidae sont les plus importantes en Amérique du nord, en Europe, en Asie et en Australie. Les vers de terre sont présents dans

différents habitats à travers le monde, là où la température et l'humidité du sol leur conviennent au moins une partie de l'année. Les vers sont groupés en trois catégories, basées sur des critères morphologiques, comportementaux (alimentation, mobilité) et écologiques (prédation, longévité). Il y a les vers **anéciques** qui sont des vers pigmentés de grande taille qui vivent dans des galeries verticales permanentes. Ils exploitent la litière de surface comme nourriture et le sol minéral comme refuge. Les vers **endogés** sont des vers non pigmentés, de taille moyenne, vivant dans les premiers cm du sol dans des galeries sub-horizontales. Les vers **épigés** sont des vers pigmentés de petite taille vivant dans la litière de surface et se nourrissant de la matière organique contenue dans celle-ci. Ces trois catégories de vers sont employées comme indicateur de la qualité du sol (Breure *et al.*, 2003).

Les **gastéropodes** sont une classe de l'embranchement des Mollusques, caractérisés par la présence d'une coquille asymétrique. Ce sont des herbivores et des détritivores, particulièrement importants dans les agroécosystèmes. Ils sont inféodés aux milieux humides et riches en calcium, mais certains gastéropodes sont adaptés au sol plus acide et présentant de faible teneur en calcium. Les gastéropodes terrestres se nourrissent essentiellement de plantes mais peuvent préférer des tissus sénescents ou en décomposition. Certaines espèces se nourrissent de basidiomycètes. On admet classiquement la division des Gastéropodes en trois sous-classes, celles de Prosobranches, des Pulmonés et des Opisthobranches. Seuls, les **Pulmonés** sont des organismes terrestres. Les gastéropodes ont été employés comme indicateur de la pollution des sols (Cortet *et al.*, 1999).

2.3. La chaîne trophique du sol et le rôle des différents composants biotiques sur les processus du sol au sein de l'écosystème

Les organismes constituant la chaîne trophique du sol peuvent être classés dans trois grandes catégories : (i) les ingénieurs de l'écosystème (ecosystem engineers) tels les fourmis et les vers de terre qui, en modifiant la structure physique du sol, créent des microhabitats pour les organismes plus petits, (ii) les transformateurs de la litière (litter transformers) tels les acariens saprophages et certains méso- et macroarthropodes qui transforment la matière organique en structure organique (boulettes fécales) et (iii) le réseau micro-alimentaire dit « microfood web » qui comprend les producteurs (autotrophes), les consommateurs primaires qui sont les organismes de la microflore pouvant décomposer les carbohydrates provenant des débris végétaux, les consommateurs secondaires et de niveau supérieur (c'est-à-dire la faune du sol) se nourrissant de la microflore et les uns des autres (Fig. 2.3., Lavelle *et al.*, 1995).

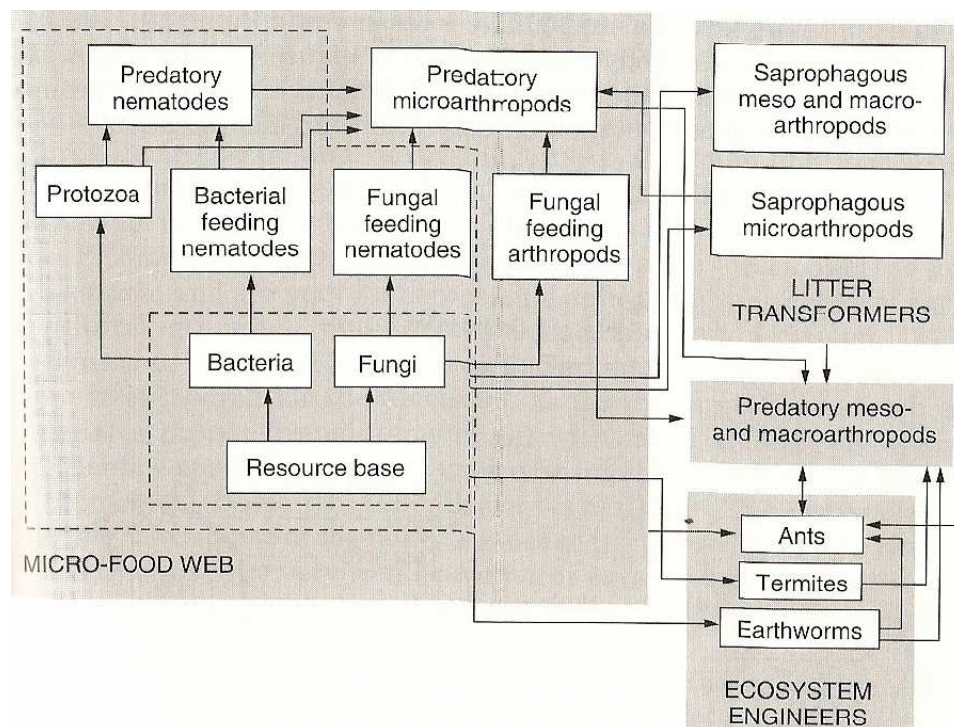


Figure 2.3. Organisation de la chaîne trophique du sol en 3 catégories (d'après Lavelle *et al.*, 1995)

Comme le montre le tableau ci-dessous (Tableau 2.1), chacun des groupes biotiques décrits ci-dessus a un impact significatif sur les processus du sol. La microflore du sol intervient dans la décomposition de la matière organique ainsi que dans le cycle des éléments nutritifs. La microfaune joue un rôle majeur via ses interactions avec la microflore du sol. La méso- et la macrofaune, via la création de boulettes (pellets) fécales, créent des pores de différentes tailles, ce qui peut affecter les flux d'eau ainsi que la croissance racinaire. A plus long terme, ces organismes peuvent influencer les processus d'humification. L'ensemble des organismes décrits dans ce chapitre peut potentiellement servir d'indicateurs de la qualité biologique des sols en raison de ses implications dans les différents processus du sol.

	Cycle des nutriments	Structure du sol
Microflore	Dégradation de la matière organique Minéralisation et immobilisation de nutriments	Production composés organiques → agrégats Hyphes → agrégats
Microfaune	Régulation de populations bactériennes et fongiques Influence sur le recyclage des nutriments	Influence sur structure des agrégats par interaction avec la microflore
Mésafaune	Régulation des populations fongiques et microfaune Influence sur le recyclage des nutriments Fragmentation des résidus des plantes	Production de pellets fécaux Création de pores Favorise formation humus
Macrofaune	Fragmentation des résidus des plantes Stimule activité microbienne	Mélange particules organiques et minérales Redistribution matière organique et microorganismes Création de pores Production de pellets fécaux Favorise formation humus

Tableau 2.1. Influence des organismes du sol sur les processus du sol (d'Après Hendrix *et al.*, 1990).

La synthèse de la bibliographie nous permettra de savoir dans quel cas les organismes du sol peuvent être employés comme indicateurs biologiques de la qualité du sol (chapitre 7). Dans certains cas, la diversité et/ou l'abondance des organismes seront employées comme indicateur de la qualité du sol. Dans d'autre cas, ce sera l'étude des processus régulés par les organismes qui sera plus pertinente.

2.4. La diversité biologique des sols en Belgique et en Europe

Au niveau européen, l'Atlas de la biodiversité du sol en Europe (Jeffery *et al.*, 2004) fourni les bases pour la compréhension du rôle des organismes dans le fonctionnement du sol. Il comprend des cartes de distribution des organismes du sol, réalisées à l'échelle européenne sur base des données disponibles via Fauna Europaea (<http://www.faunaeur.org/>), estimant le nombre d'espèces dans des régions biogéographiques ou pays. Ces cartes donnent une première idée de la diversité de la faune du sol, mais elles doivent être interprétées avec prudence, étant donné que des valeurs faibles peuvent résulter d'un manque de données. Ceci peut éventuellement expliquer pourquoi la diversité sur ces cartes est systématiquement plus faible en Belgique que dans les régions avoisinantes. En ce qui concerne les bactéries, on note que la distribution semble être liée à des caractéristiques locales (pH, type de sol et végétation) plutôt que globales. On note également la spécificité des données (difficilement comparables entre études), ainsi que la faible documentation et compréhension de la distribution plus globale des micro-organismes.

Au niveau belge, deux rapports récents sur la biodiversité en Belgique (Peeters *et al.*, 2003; Peeters *et al.*, 2006) ainsi que la plateforme Belge de la biodiversité (<http://www.biodiversity.be/>) et BIOBEL (<http://biobel.biodiversity.be/>) synthétisent les données disponibles et les activités de recherche en matière de biodiversité en Belgique. Une liste des experts (faune du sol) est accessible sur Fauna Europaea (<http://www.faunaeur.org/>) (Tableau 2.2).

<u>Expert</u>	<u>Groupe faunistique</u>	<u>affiliation</u>
Andre, Dr Henri M.	Familles : Ereyetidae, Iolinidae, Meyerellidae, Tydeidae (acariens)	Musee royal de l'Afrique centrale / Universite Catholique de Louvain
Barbier, Dr Yvan	Familles: Ampulicidae, Crabronidae, Heterogynidae, Sphecidae (hyménoptères)	Universite de Mons-Hainant
Bert, Wim	Non spécifié	Ghent University
De Prins, Mr Willy	Non spécifié	Flemish Entomological Society
De Smet, Willem	Familles : Dicranophoridae, Proalidae (rotifères)	Antwerp University (RUCA)
Decraemer, Prof. Dr Wilfrida	Non spécifié	Koninklijk Belgisch Instituut voor Natuurwetenschappen
Kime, Mr Desmond	Non spécifié	Royal Belgian Institute of Natural Sciences
Meyer, Dr Marc de	Famille : Pinunculidae (diptères)	Koninklijk Museum Midden-Afrika
Pollet, Dr Marc	Famille : Dolichopodidae (diptères)	IWT Flanders
Segers, Hendrik	Familles : Adinetidae, Asplanchnidae, Atrochidae, Brachionidae, Collothecidae, Conochilidae, Dicranophoridae, Epiphanidae, Euchlanidae, Flosculariidae, Gastropodidae, Habrotrichidae, Hexarthridae, Ituridae, Lecanidae, Lepadellidae, Lindiidae, Microcodidae, Mytilinidae, Notommatidae, Philodinavidae, Philodinidae, Proalidae, Scardiidae, Synchaetidae, Testudinellidae, Tetrasiphonidae, Trichocercidae, Trichotriidae, Trochosphaeridae (rotifères)	Royal Belgian Institute of Natural Sciences
Van de Weyer, G.	Non spécifié	-private-
Wahis, Mr Raymond	Non spécifié	-private-

Tableau 2.2. Liste des experts accessible sur Fauna Europaea

En Belgique, les données sur les différents groupes d'animaux sont incomplètes, fragmentées ou tout simplement indisponibles', notent Peeters *et al.* (2006). Ainsi, afin d'estimer le nombre d'espèces susceptibles d'être présentes en Belgique, les chercheurs ont considéré les espèces présentes dans des habitats similaires dans des pays voisins. Aucune donnée n'existe concernant la diversité bactérienne ou les symphiles de notre pays, la plupart des espèces de protozoaires vivant en Belgique sont inconnues, rendant l'estimation de leur nombre impossible (Peeters *et al.*, 2006). De plus, pour certains orgnaismes, les études datent des années 1980 voire 1950. Certaines données sont disponibles concernant la densité des microarthropodes dans les forêts wallonnes feuillues (Andre *et al.*, 2002), certaines études ont été réalisées en Belgique (Lebrun *et al.*, 1989) et , spécifiquement, dans une forêt wallone (Ducarme *et al.*, 2004) concernant la diversité des acariens.

A l'échelle européenne, seuls quelques pays (France, Allemagne, Pays-Bas, Portugal) ont un programme de suivi de la diversité biologique des sols au niveau de la faune du sol (Turbé *et al.*, 2010). Dans son rapport concernant la biodiversité des sols en Région wallonne, André *et al.* soulignent (André *et al.*, 2006) que les données présentées sont issues d'autres pays européens puisque aucune étude récente se rapportant à la biodiversité des sols, tant celle de la faune et celle de la flore, ne concerne la Région wallonne.

3. Concept de qualité des sols et d'indicateurs biologiques de la qualité des sols

3.1. La notion de qualité du sol

La prise de conscience de l'importance des sols n'est pas neuve. Déjà, en 1953, Lowdermilk déclarait que « si le sol était endommagé, notre liberté de choix et d'action serait réduite, condamnant les générations présentes et futures à des privations inutiles et à des dangers à venir ». Le lien entre la qualité du sol et l'importance de sa viabilité dans le temps était déjà énoncé.

En 1977, Warkentin et Fletcher suggèrent d'introduire le concept de "qualité du sol" en raison des multiples fonctions et services rendus et assurés par le sol. L'idée de développer des critères associés à ce concept se développa ensuite afin de faciliter une meilleure gestion et utilisation des terres. Cependant, la « qualité du sol » est un concept difficile à définir car le sol est un milieu complexe, où de nombreuses interactions existent (sol-air, sol-eau, sol-plantes, micro-organismes-micro-organismes, plantes-micro-organismes). De plus, ces interactions doivent être envisagées à différentes échelles spatiales et temporelles.

Les définitions les plus simples sont : « aptitude à l'emploi » (Larson et Pierce, 1991) et « capacité à fonctionner » (Karlen *et al.*, 1997). On note dès le départ que la notion de qualité du sol est indissociable des fonctions du sol. **La définition de la qualité des sols est donc une notion subjective, dépendant des attentes de son utilisateur.** Au départ, la notion de qualité des sols était souvent associée à la notion de fertilité. En effet, auparavant, le sol était surtout considéré comme un support pour la croissance des plantes. Pour Warkentin et Fletcher (1977), un sol de qualité était un sol capable d'augmenter le rendement de croissance des cultures. En 1991, Larson et Pierce suggèrent la définition suivante : « la qualité d'un sol est sa capacité à fonctionner dans les limites de son écosystème et à interagir avec l'environnement extérieur ». Cette définition englobe l'ensemble des fonctions rendues par les sols à la société humaine, bien au-delà de la seule fonction de productivité, et intègre la notion selon laquelle le sol est en interaction avec les autres compartiments écosystémiques. Le concept de qualité des sols évolue donc avec notre perception des différentes fonctions remplies par le sol. La qualité du sol ne se limite plus à son rôle de productivité biologique, mais englobe également son rôle d'habitat pour les organismes, ainsi que ses rôles de support physique pour les infrastructures anthropiques et de réduction de la pollution, soutenant la santé et le bien-être humain. La qualité du sol a alors été définie comme la capacité du sol à accomplir diverses fonctions intrinsèques et extrinsèques : « La qualité est un mélange de propriétés physiques, chimiques et biologiques qui ensemble, (i) fournissent un milieu pour la croissance des plantes et pour les activités biologiques, (ii) régulent les flux d'eau dans l'environnement, (iii) jouent un rôle de tampon vis à vis des pollutions diverses » (Larson et Pierce, 1994). Une autre étape dans l'évolution du concept est la prise de conscience que le sol est une ressource non renouvelable à l'échelle humaine. Afin de maintenir le sol dans un état acceptable pour les générations futures, des décisions et des mesures de gestion doivent être prises. Cela a abouti à la définition suivante : **'La qualité d'un sol est sa capacité continue à fonctionner comme un système vivant, au sein d'écosystèmes naturels ou gérés, dans le but de maintenir la productivité biologique, de maintenir ou d'augmenter la qualité de l'eau et de l'air et de promouvoir la santé des animaux, des végétaux et humaines'** (Doran et Parkin, 1994 ; Doran *et al.*, 1996).

Le concept a encore évolué avec l'intégration de l'importance de la biodiversité des sols. Ainsi, en 2004, Eijsackers a défini la qualité des sols comme « leur capacité à maintenir un fonctionnement correct grâce à une biodiversité de processus et d'organismes qui réalisent ces processus ».

Ces diverses définitions soulignent donc bien que la notion de qualité du sol est substantielle d'une vision anthropocentrée du fonctionnement des sols. Il est illusoire de chercher à établir une définition universelle pour la qualité des sols. En effet, le concept de qualité du sol renferme une multitude d'attributs du sol, qui dépendent de la situation. La définition de la qualité du sol doit évoluer en intégrant à la fois le contexte pédologique donné et l'usage auquel le sol est destiné. En effet, notre vision des fonctions essentielles que doit remplir un sol dépend de l'utilisation que l'on veut faire de ce sol. Les diverses définitions ci-dessus présentent d'ailleurs la qualité du sol comme dépendante de leur variabilité naturelle, de l'usage choisi par les humains et du climat. C'est pourquoi les fonctions du sol doivent être envisagées selon une approche à la fois centrée sur les types de sol rencontrés et sur les besoins de l'homme vis-à-vis de ces sols, en gardant à l'esprit la nécessité du maintien de la pérennité du sol pour les générations futures.

3.2. Notion de bioindicateurs et d'indicateurs biologiques

D'après Ramade (2002), un bioindicateur est un terme synonyme d'indicateur biologique qui désigne toutes espèces animales ou végétales qui, par suite de leurs particularités écologiques, sont l'indice précoce (organismes sentinelles) de modifications abiotiques ou biotiques de l'environnement dues à tel ou tel type d'action humaine. Bien que ces deux termes soient synonymes selon cette définition, nous estimons qu'une différence existe entre ceux-ci. En effet, un indicateur biologique peut également être un processus régulé par un organisme. Nous utiliserons dans la suite de l'exposé le terme d'indicateur biologique. En effet, le terme bioindicateur nous restreindrait à l'étude des organismes seuls et non aux processus régulés par ceux-ci. Le terme indicateur biologique nous paraît mieux convenir pour un suivi à long terme de la qualité des sols au côté des indicateurs physiques et chimiques.

On pourrait donc considérer un indicateur biologique de la qualité d'un sol comme étant un organisme ou un processus biologique qui est l'indice précoce de modifications de l'environnement et dont les valeurs fournissent une information sur la capacité d'un sol à fonctionner comme un système vivant, au sein d'écosystèmes naturels ou gérés, dans le but de maintenir la productivité biologique, de maintenir ou d'augmenter la qualité de l'eau et de l'air et de promouvoir la santé des animaux, des végétaux et humaines.

Un bon indicateur de la qualité du sol doit présenter certaines particularités :

- il doit être représentatif de la fonction considérée
- il doit être pertinent par rapport au type de sol/type d'usage
- il doit être interprétable facilement par les utilisateurs
- il doit être sensible aux variations environnementales. Il doit l'être suffisamment afin de refléter l'influence des variations sur les caractéristiques du sol à long terme mais pas trop afin de ne pas indiquer des variations mineures dues par exemple aux variations environnementales journalières.
- il doit être fiable et reproductible
- il doit être facilement mesurable et utilisable en routine
- il doit présenter un coût raisonnable

L'ensemble de ces caractéristiques devra être pris en compte lors de l'étape ultérieure de sélection des indicateurs biologiques de la qualité du sol (chapitre 8).

4. Caractéristiques et occupations des sols en Wallonie.

Un paysage est caractérisé principalement par sa composante naturelle, antérieure à toutes interventions humaines. Cette composante naturelle comprend la géomorphologie (les formes du relief et du réseau hydrique) ainsi que la nature et la répartition de la végétation. Ces deux éléments essentiels du paysage résultent de la constitution géologique, autrement dit de la nature et de l'agencement géométrique des roches, et des conditions climatiques passées et actuelles. En Wallonie, la géomorphologie résulte essentiellement de processus d'érosion. Le sous-sol wallon est essentiellement constitué de formations sédimentaires marines. Les sédiments continentaux y sont peu développés et il y a très peu d'intrusions magmatiques. L'enchaînement des périodes de sédimentation, de déformation et d'érosion a configuré le paysage de la Région wallonne. Je vais décrire dans le paragraphe suivant (§6.1.), les diverses régions naturelles de la Wallonie résultant de l'histoire géologique de la Wallonie.

4.1. Régions naturelles de Wallonie

La Wallonie se compose de six régions naturelles : la région sablo-limoneuse, la région limoneuse, le Condroz, la Famenne, l'Ardenne et La Lorraine Belge (Fig. 4.1.).

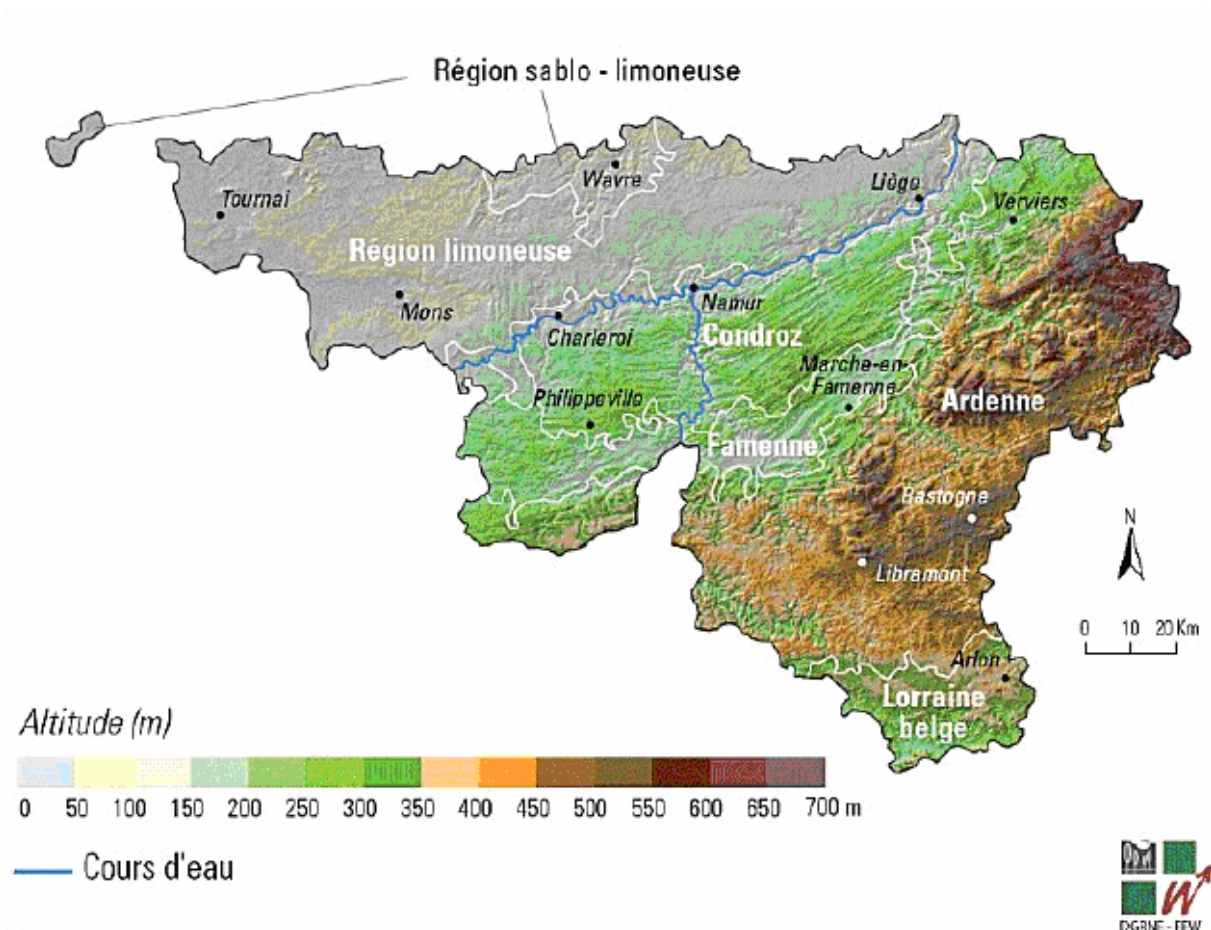


Figure 4.1. Régions naturelles et relief de la Wallonie (Rapport analytique sur l'état de l'environnement wallon, 2006-2007)

La région limoneuse et sablo-limoneuse :

Le soubassement de toute cette partie de la Wallonie est constitué par le socle ancien calédonien (série sédimentaire d'âge Cambrien, Ordovicien et Silurien). Dans les vallées creusées par les rivières à travers la couche de loess et à travers les couches du Méso- et Cénozoïque (craies, sables, argiles restées à l'état meuble), ce soubassement est visible. Ce sont les couvertures de loess et de sédiments méso/cénozoïques qui confèrent son caractère à cette région : c'est une région plate à modérément vallonnée. On y distingue des bas plateaux (le plateau du Hainaut, celui du Brabant, de Hesbaye) caractérisés par des altitudes de l'ordre de 50 à 200 m. Les sols sont des sols de type sableux, sablo-limoneux et limoneux (Fig. 4.2.), assez bien drainés et fertiles.

La région condruzienne :

Les couches de sédiments datant du Dévono-Carbonifère ont formé une vaste cuvette complexe suite au plissement varisque. Au centre de cette cuvette, une succession de plis font affleurer à la surface du sol les grès du Dévonien supérieur (zones anticlinales) et les calcaires du Carbonifère inférieur (zones synclinales). Suite à des différences de résistances à l'érosion, on observe dans le Condroz, une alternance de crêtes gréseuses et de vallons calcaires. Le plateau du Condroz s'élève de 200 à 350 mètres. Les sols sont de type limoneux (Fig. 4.2.) au drainage imparfait, limono-caillouteux (psamites, calcaires). Ce sont des sols moins bien drainés et moins fertiles que ceux de la région limoneuse, convenant mieux aux pâturages.

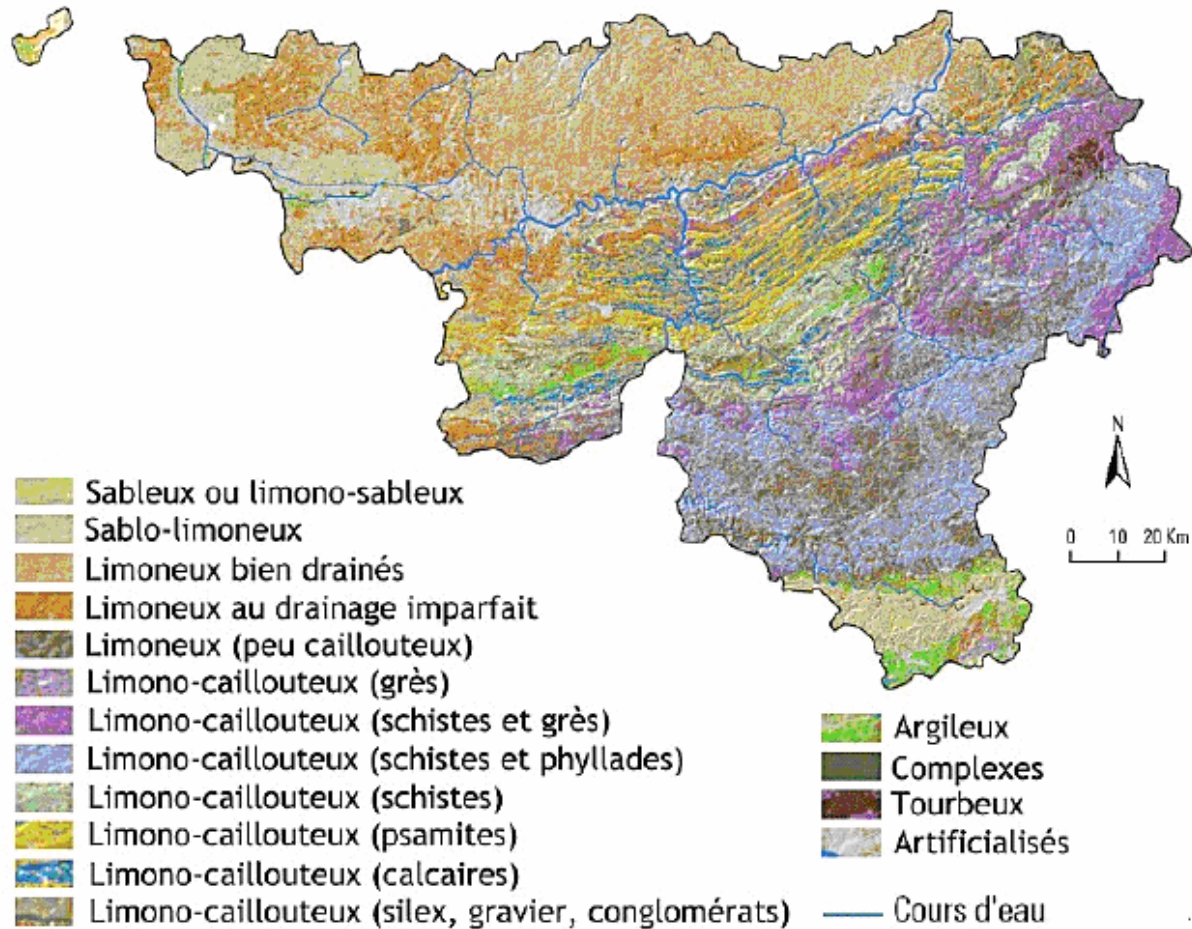


Figure 4.2. Principaux types de sols (Rapport analytique sur l'état de l'environnement wallon, 2006-2007)

La région de la Famenne :

C'est une région constituée essentiellement de terrains schisteux peu résistants à l'érosion. Cette région forme une dépression c'est-à-dire qu'il s'agit d'une région d'altitude inférieure à celle des régions voisines (Condroz et Ardenne). C'est une région peu accidentée, présentant une altitude variant de 150 à 250 mètres et des sols de type limono-caillouteux (schistes) (Fig. 4.2.).

L'Ardenne :

Cette région est caractérisée par l'affleurement des formations géologiques du Dévonien inférieur. Il s'agit d'affleurement de grès, de quartzites, de schistes ardoisiers ou de siltites schisteuses. Le loess y est moins abondant que dans les régions plus septentrionales. Le socle calédonien n'affleure que dans de rares endroits dits « massifs calédoniens ». C'est la région la plus élevée de Belgique et l'altitude dépasse généralement les 500 mètres. Le point culminant de la Belgique (le signal de Botrange) a une altitude de 694 mètres. Cette région présente des sols de type limono-caillouteux (schistes, grès, phyllade) peu fertiles (Fig.4.2.).

La Lorraine Belge :

Cette région naturelle est constituée par la couverture mésozoïque, dont les couches descendent en pente faible vers le sud. Des niveaux de grès calcaireux alternent avec des niveaux argileux. Elle présente un caractère totalement différent de celui des autres régions car les formations n'ont jamais été pénéplanées. L'altitude ne dépasse jamais 465 mètres. Cette région présente des sols de type limono-caillouteux (silex, gravier, conglomérats) (Fig. 4.2.).

4.2. Occupations des sols

La Wallonie a une superficie de 16844 km². Elle est occupée sur plus de la moitié de son territoire par des terres agricoles et sur plus ou moins un tiers de celui-ci par des forêts. Les surfaces restantes sont occupées par des friches industrielles, des maisons, des jardins, des routes, des aéroports, des équipements publics, des industries... La carte ci-dessous représente l'occupation des sols (Fig. 4.3).

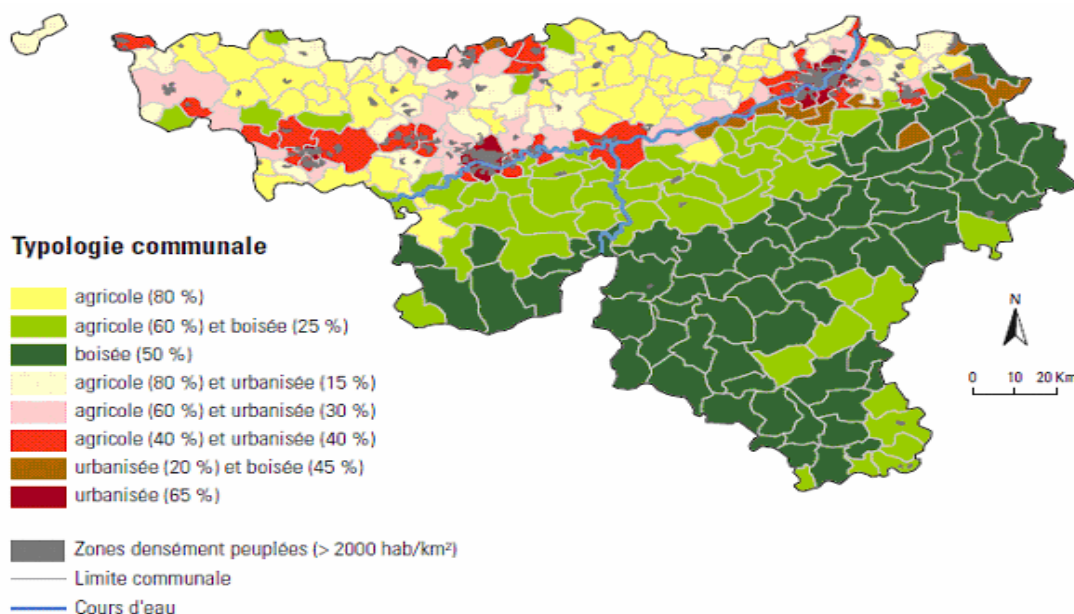


Figure 4.3. Occupation du territoire par commune (Rapport analytique sur l'état de l'environnement wallon, 2006-2007)

En observant cette carte (Fig. 4.3.), on constate que les terres urbanisées sont concentrées principalement le long du sillon Sambre et Meuse. Les terres agricoles sont localisées de part et d'autre de ce sillon. Les terrains boisés se situent majoritairement en Ardenne et en Lorraine Belge.

Approximativement 80% du territoire communal est consacré à l'agriculture dans près de 80 communes tandis que les surfaces boisées y sont peu abondantes. Dans ces communes, l'urbanisation est peu importante (14%). Ces communes sont réparties sur les plateaux hennuyers et brabançons, en Hesbaye (région limoneuse et sablo-limoneuse) et dans le pays de Herve (Ardenne). Dans une soixantaine de communes, le territoire est largement boisé avec plus de 50% de leurs superficies recouvertes de bois. Les terrains agricoles représentent entre 20 et 40% du territoire. L'urbanisation y est faible (8%). Ces communes sont situées en Ardenne. Dans le Condroz, en Famenne et en Lorraine belge ainsi que dans certaines communes ardennaises, 60% du territoire est agricole et 25% est boisé. L'urbanisation y est modérée et couvre plus ou moins 10% du territoire. Une soixantaine de communes sont urbanisées à plus de 20% et on peut les subdiviser en trois catégories. Celles comptant encore 65% du territoire occupé par l'agriculture. On retrouve ces 25 communes en périphérie des grands centres urbains. La moitié de leur aire est vouée à l'agriculture. La seconde catégorie regroupe quelques communes urbaines présentant d'importantes surfaces boisées. Elles sont localisées dans des vallées présentant des versants boisés ou à proximité de grands massifs forestiers. Dans cinq communes (Liège, Charleroi, St Nicolas, Herstal et Quaregnon), l'urbanisation représente plus de 65% du territoire.

4.2.1. Occupation agricole

Sur base des données collectées par la direction générale statistique et information économique dans le cadre du recensement agricole de mai 2007, 748.840 hectares de territoire wallon sont voués à l'agriculture. Les terres agricoles sont aussi bien des terres cultivées, que des prairies ou des vergers.

On distingue en Wallonie 10 régions agricoles (Fig. 4.4) : la région sablo-limoneuse, la région limoneuse, le Condroz, la Famenne, la Fagne, la Campine hennuyère, la Haute Ardenne, la région herbagère, la région jurassique, l'Ardenne.

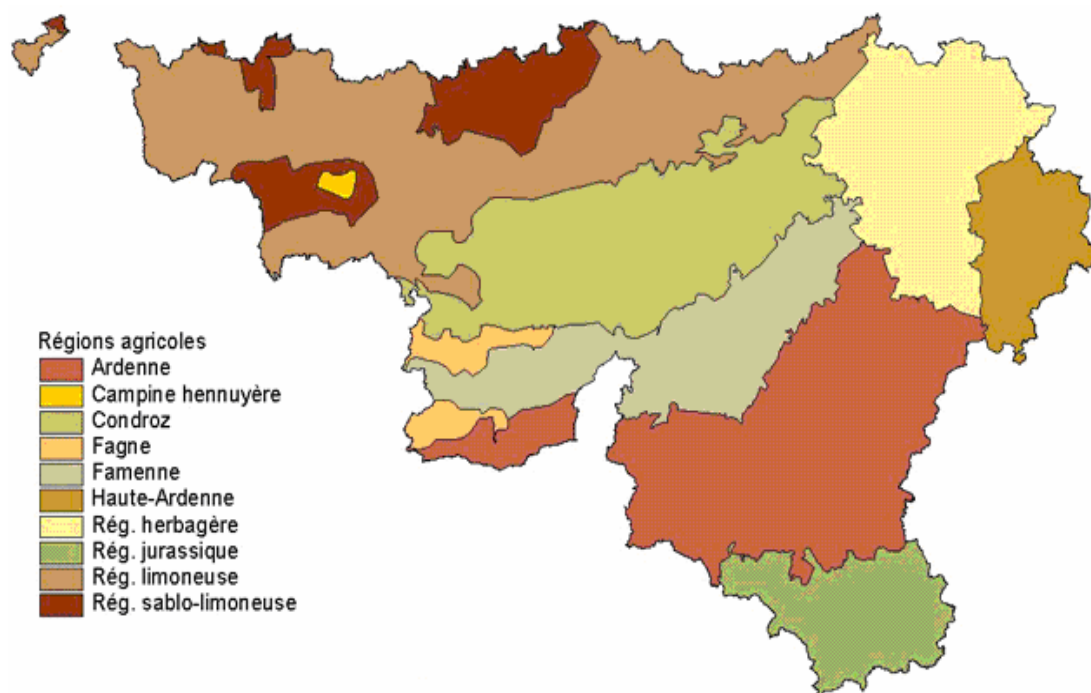


Figure 4.4. Régions agricoles de Wallonie (Inventaire de la qualité des sols en Région wallonne, 2001)

La **région limoneuse** couvre la plus grande superficie, elle s'étend sur l'ensemble des provinces wallonnes exception faite du Luxembourg. En raison de la présence de loess, les terres y sont très fertiles. Approximativement 75% de la superficie agricole utilisée (SAU) est consacrée aux cultures de céréales, de betteraves sucrières et de pommes de terre. Dans une moindre mesure, les cultures fruitières y sont présentes (Fig. 4.5).

Dans la **région sablo-limoneuse**, la nature du sol permet une large gamme de cultures telles celles observées en régions limoneuse (cultures de céréales, de betteraves sucrières et de pommes de terre). Dans cette région, approximativement 70% de la SAU (Fig. 4.5) est vouée aux cultures. Les cultures de fruitiers y sont aussi importantes.

Dans la **Campine hennuyère**, la nature plus pauvre du sol favorise les cultures de céréales et de fourrages verts. Dans cette région, plus ou moins la moitié de la SAU est consacrée à la culture (Fig. 4.5).

Le **Condroz** est une région plus accidentée, faite de plateaux entrecoupés de vallées, de dépressions et de rivières. Les cultures (céréales, betteraves sucrière, plantes oléagineuses) recouvrent environ 50% du territoire et les prairies 40% de celui-ci (Fig. 4.5).

La **Famenne** est une région où la nature et la qualité du sol sont assez variables. Dans cette région, 70% de la SAU est consacrée aux prés et prairies. La principale culture est celle des céréales.

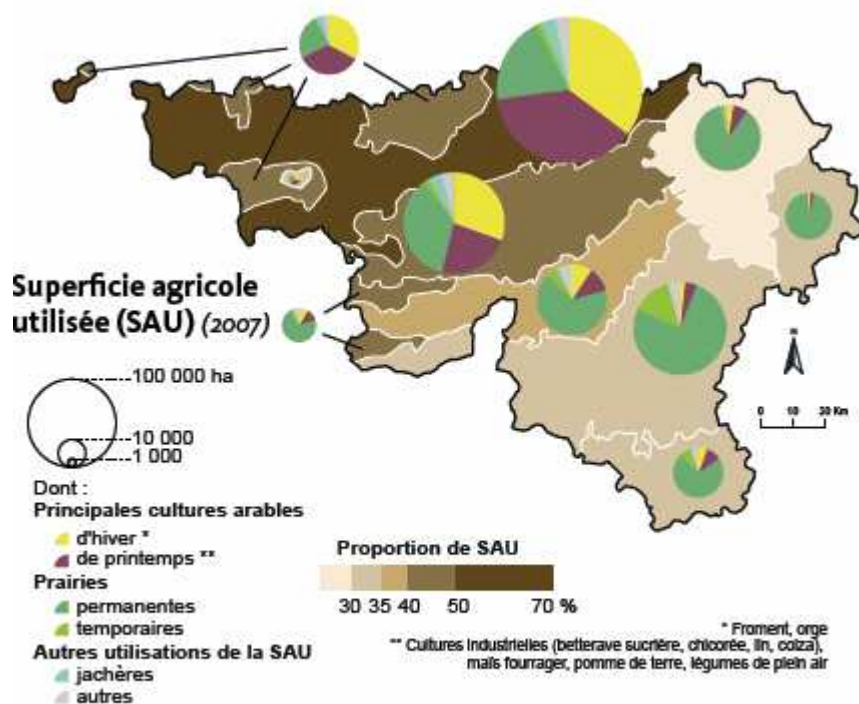
La **Fagne** est une région herbagère où plus de 80% de la SAU (Fig. 4.5) est occupée par des pâturages et des prés. Le reste du territoire est employé pour la culture céréalière ou pour celle de fourrages verts.

La **région herbagère** est formée par le Pays de Herve, l'Ardenne liégeoise et une partie des régions de l'est du pays. En raison de la présence de pentes fortement inclinées ou de la faible profondeur des sols, 90% de la SAU (Fig. 4.5) est occupée par des prairies et des prés. Les cultures fruitières sont également présentes dans la région.

En **Haute Ardenne**, les prés et les prairies occupent la quasi-totalité de la SAU.

En **Ardenne**, le sol schisteux et peu profond est peu propice à la culture. Les prés et les prairies recouvrent 90% de la SAU (Fig. 4.5). L'épeautre et l'orge de printemps sont les principaux types de culture dans cette région.

La **région jurassique** (Lorraine belge) présente un sol de nature diversifiée. La majorité de la SAU (75%) est occupée par les prairies et les prés mais des céréales y sont toujours cultivées.



Source : SPF Economie – DGSIE (INS) (Recensements agricoles et horticoles annuels) (calculs CEEW)

Figure 4.5. Utilisation de la superficie agricole en Région wallonne (Tableau de bord de l'environnement wallon, 2008)

Il y a des régions dont la surface agricole utile représente entre 30% et 35% de la superficie de la région : il s'agit de la région jurassique, la Haute Ardenne, l'Ardenne et la Campine Hennuyère. Pour la Famenne, 35-40% du territoire régional est utilisé comme surface agricole utile. Pour le Condroz, et la région sablo-limoneuse, la SAU couvre 40-50% de la superficie régionale. En région limoneuse, de 50 à 70% de la surface régionale est consacrée à l'agriculture (Fig. 4.5.).

4.2.2. Occupation forestière

Sur base des données parues dans le tableau de bord de l'environnement wallon (2008), plus de 550 000 hectares de territoire wallon sont boisés. Les peuplements d'épicéas sont les plus étendus et sont localisés en Ardenne. Cependant, les peuplements feuillus représentent 52% de la superficie productive. Les chênaies et les hêtraies occupent respectivement 34% et 18% de la superficie dévolue aux feuillus. La diversification des peuplements est surtout observée en région limoneuse, dans le Condroz et dans la région jurassique.

Dans la région **limoneuse**, moins de 10% du territoire sont boisés. La majorité des peuplements sont des peuplements d'essences feuillues (Fig. 4.6.).

Le taux de boisement dans les régions **sablo-limoneuse** et **condruzienne** varie de 10 à 25 % de la superficie régionale. Les essences rencontrées dans ces régions sont essentiellement feuillues (Fig. 4.6).

De 25 à 50% de la superficie du territoire sont boisés dans la **Famenne** et la région **jurassique** (Fig. 4.6). Approximativement, 75% de cette superficie sont plantés de feuillus.

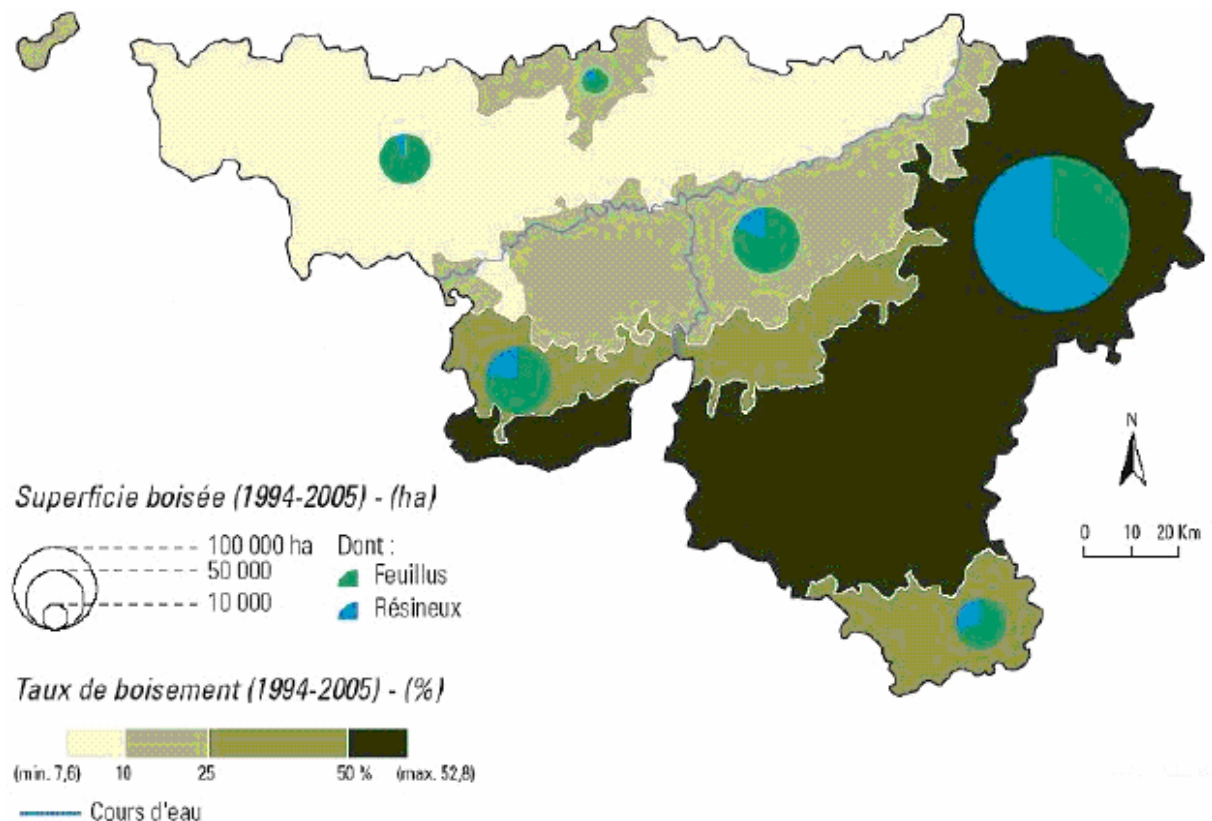


Figure 4.6. Taux de boisement des régions naturelles de Wallonie (Rapport analytique sur l'état de l'environnement wallon, 2006-2007)

En **Haute Ardenne**, en **Ardenne**, dans la région **herbagère** mais également dans les **Fagnes**, plus de 50% de la superficie régionale est vouée à la sylviculture. La majorité de cette superficie est plantée d'essences résineuses (Fig. 4.6).

Du point de vue de la composition des peuplements, on observe un accroissement de la superficie dévolue aux plantations de peuplements plus mélangés (feuillus nobles, feuillus divers), une augmentation des douglasaies, et une diminution des pineraies, mélèzières et pessières.

4.2.3. Les zones urbanisées

Les zones urbanisées couvrent 15 % du territoire. Ce sont des zones d'habitats, d'activités économiques, de loisirs, des zones liées au transport, Nous allons décrire plus particulièrement les sites d'activités économiques désaffectés qui sont des sites potentiellement pollués de façon locale.

En Wallonie, on ignore le nombre réel de sites potentiellement pollués car l'estimation du nombre de ces sites requiert des analyses de terrain méthodiques. De plus, certains sites ne sont pas encore identifiés et certains sites subissent des pollutions accidentelles non répertoriées. Des données européennes indiquent la présence de 5 sites pollués pour 1000 habitants. Sur base de cette estimation, il y aurait 17000 sites pollués en Belgique.

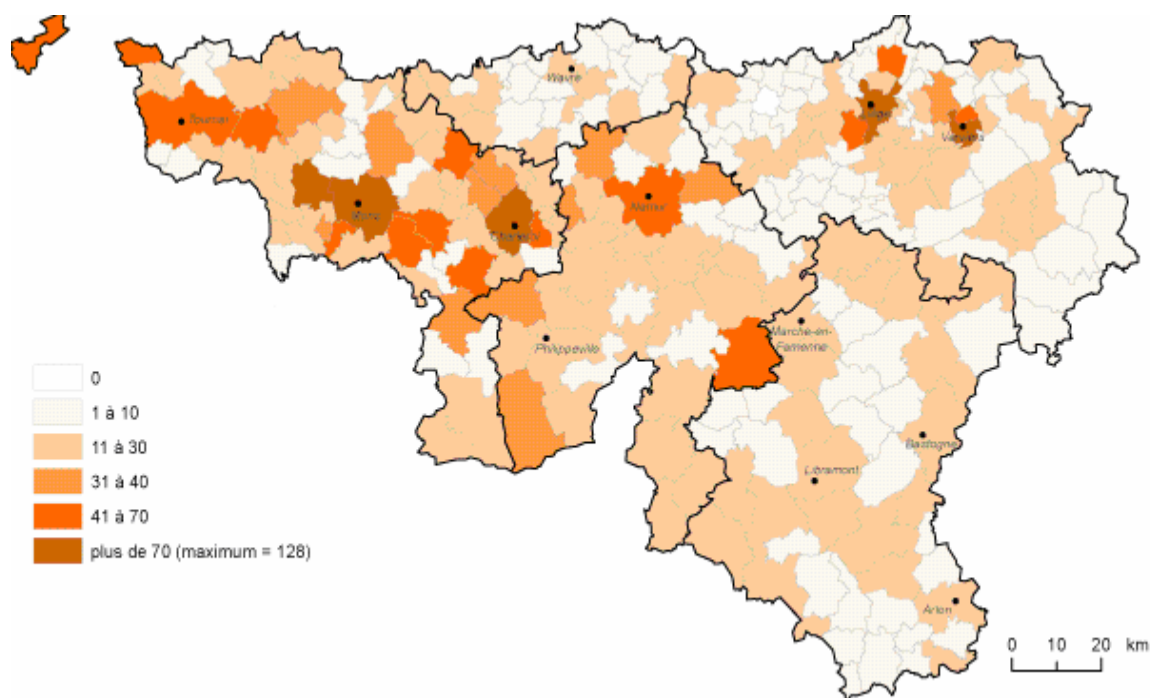


Figure 4.7. Nombre de décharges et de friches industrielles.

En Wallonie, 3500 friches industrielles et 2500 dépotoirs ont été recensés. Ces sites d'activités économiques désaffectés (SAED) sont surtout localisés dans les zones à haute densité de population telles Liège, Verviers, Mons, Charleroi, Tournai, Namur (Fig. 4.7.).

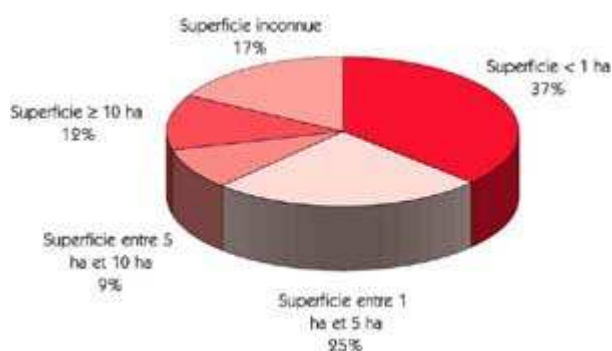


Figure 4.8. Répartition des SAED par classe de superficie en Région wallonne (janvier 2000) (Ministère de la Région wallonne, DGATLP)

En consultant les données issues de l'inventaire réalisé par la DGATLP/SPAQuE, il apparaît que la majorité des SAED se situent dans la province du Hainaut. Les SAED sont majoritairement des SAED dont la superficie n'excède pas 1 ha, localisés dans des zones urbanisées et se rapportant à un grand nombre de secteurs d'activités économiques. Les SAED présentant une superficie supérieure à 15 ha ne représentent que 6 % des SAED et ne se rapportent qu'à un petit nombre d'activités économiques (Fig. 4.8.).

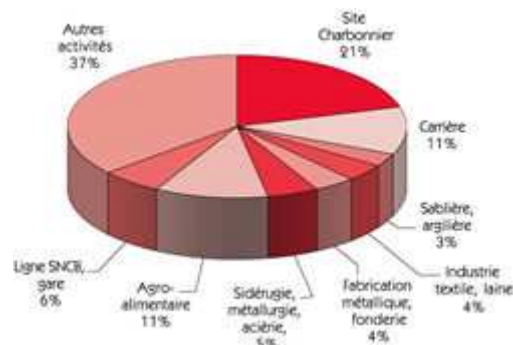


Figure 4.9. Répartition des SAED, par ancien secteur d'activité en Région wallonne (janvier 2000) (Ministère de la Région wallonne, DGATLP).

La majorité des SAED sont d'anciens sites charbonniers (Fig. 4.9.). Ensuite, il y a les carrières et les sites liés à l'industrie agroalimentaire. On retrouve les sites sidérurgiques, les fonderies et aciéries ainsi que les industries textiles. La catégorie « autres activités » regroupent des cimenteries, briqueteries, verreries, industries chimiques, papeteries, abattoirs, tanneries, commerces et écoles.

Ces sites ont été classés par la SPAQuE en terme de risque de pollution, bien que le risque considéré soit uniquement basé sur les activités passées connues, et non sur un échantillonnage de terrain. Quatre catégories ont été établies : la catégorie A qui présente un risque élevé de contamination, lié aux activités du domaine de la pétrochimie ou de la métallurgie, aux cokeries, centrales électriques, ...La seconde catégorie, dite B, présente un risque moyen de contamination, associé à d'anciennes activités telles les scieries, stations service, papeteries, cimenteries, ...La catégorie C regroupe les sites où le risque de contamination est faible tels les abattoirs, menuiseries, laiteries, terrils, carrières. La dernière catégorie (D) groupe les sites où le risque serait inexistant, comme cela peut être le cas pour des cinémas, des restaurants,7% des SAED présentent un risque élevé, 24% un risque moyen et 52% un risque faible.

Dans la plupart des cas, les pollutions locales sont des pollutions ayant pour origine les activités économiques passées. En effet, par le passé, l'impact environnemental d'une activité économique était rarement pris en compte. Les polluants les plus fréquents sont les éléments traces métalliques (arsenic, cuivre, zinc, chrome, nickel,...) liés à la sidérurgie, l'imprimerie, l'industrie textile ; les BTEX utilisés comme solvants dans l'industrie chimique ou cosmétique, dans l'imprimerie ; les hydrocarbures aliphatiques présents dans les combustibles, carburants, lubrifiants,... ; les hydrocarbures aromatiques polycycliques générés par les activités de traitement du charbon ou par l'industrie pétrochimique ; les polychlorobiphényles (PCB) utilisés comme huiles de transformateurs et de condensateurs entre autre chose ; les cyanures, présents par exemple dans les eaux de lavage des hauts fourneaux. Ces substances peuvent altérer la qualité de l'environnement ainsi que la santé humaine.

En observant les différentes cartes de ce chapitre, il apparaît que le sillon Sambre et Meuse scinde la Wallonie en deux grandes sous région du point de vue du type de sol et de l'usage. Il apparaît que les régions au nord du Sillon Sambre et Meuse présentent des sols de type sablo-limoneux et limoneux. Elles sont principalement consacrées à l'agriculture et surtout aux cultures. Les régions au sud du Sillon Sambre et Meuse ont un sol de type limono-caillouteux (nature roche différente). Elles sont principalement boisées, excepté le Condroz où 60% du territoire de la région est occupé par l'agriculture et 25% est boisé. Cependant, la région est surtout consacrée au pâturage et non à la culture. Les zones urbanisées se situent le long du Sillon Sambre et Meuse et dans les zones à haute densité de population au nord de celui-ci.

4.3. Occupation du sol-type d'usage

Nous avons étudié les résultats du croisement de la carte d'occupation des sols et de la carte des types de sols rencontrés en Wallonie (annexe 2). Nous avons ensuite sélectionnés les types d'usage tout types de sols confondus qui représentaient une superficie supérieure à 100 km². Les usages suivants, occupant moins de 100 km² ont ainsi été éliminés : îlots urbains continus denses ; réseaux routiers et ferroviaires et espaces associés ; zones portuaires ; aéroports et aérodromes ; vergers productifs ; friches agricoles ; décharges ; friches, ruines et bâtiments abandonnés ; espaces verts urbains ; équipements sportifs et de loisirs de plein air ; autres

terrains artificialisés ; forêts mélangées ; landes et broussailles, terrils recolonisés ; marais intérieurs ; les tourbières ; cours et voies d'eau ; plan d'eau ; sols non classés ; pelouses et pâturages naturels. Nous avons aussi décidé d'éliminer les zones non cadastrées.

Nous obtenons donc le tableau croisé type d'usage/type de sol (Tableau 4.1.). Si l'on considère les superficies occupées par ces différentes combinaisons types de sols/types d'usage, 33 combinaisons différentes prévalent (nous avons exclu les sols artificiels ou non cartographiés) :

- terres arables sur sols limoneux à drainage naturel favorable
- prairies permanentes sur sols limoneux à drainage naturel favorable
- terres arables sur sols limoneux à drainage naturel modéré ou imparfait
- prairies permanentes sur sols limoneux peu caillouteux à drainage naturel favorable
- prairies permanents sur sols limoneux à drainage naturel modéré ou imparfait
- forêts de feuillus sur sols limoneux à drainage naturel favorable
- forêts de type non spécifié sur sols limoneux peu caillouteux à drainage naturel favorable
- forêts de conifères sur sols limoneux peu caillouteux à drainage naturel favorable
- forêts de conifères sur sols tourbeux ou tourbières
- forêts de type non spécifié sur sols tourbeux ou tourbières
- prairies permanentes sur sols limono-caillouteux à charge schisto-phylladeuse et à drainage naturel quasi-exclusivement favorable
- prairies temporaires sur sols limoneux peu caillouteux à drainage naturel favorable
- terres arables sur sols sablo-limoneux à drainage naturel principalement favorable
- terres arables sur sols sablo-limoneux à drainage naturel principalement modéré ou imparfait
- forêts de type non spécifiés sur sols limoneux à drainage naturel favorable
- forêts de feuillus sur sols limoneux à drainage naturel modéré ou imparfait
- forêts de feuillus sur sols limoneux peu caillouteux à drainage naturel favorable
- Ilots urbains et tissu bâti sur sols limoneux à drainage naturel favorable
- prairies permanentes sur sols limoneux peu caillouteux à drainage naturel principalement modéré à assez pauvre
- forêts de type non spécifié sur sols limono-caillouteux à charge schisto-phylladeuse et à drainage naturel quasi-exclusivement favorable
- forêts de conifères sur sols limono-caillouteux à charge schisto-phylladeuse et à drainage naturel quasi-exclusivement favorable
- prairies permanentes sur sols limono-caillouteux à charge schisto-gréseuse ou gréseuse et à drainage naturel favorable
- prairies permanentes sur sols sablo-limoneux à drainage naturel principalement modéré ou imparfait
- forêts de type non spécifié sur sols limoneux à drainage naturel modéré ou imparfait
- terres arables sur sols limono-caillouteux à charge schisto-phylladeuse et à drainage naturel quasi-exclusivement favorable
- prairies permanentes sur sols tourbeux ou tourbières
- forêts de type non spécifié sur sols limono-caillouteux à charge schisto-gréseuse ou gréseuse et à drainage naturel favorable
- terres arables sur sols sableux ou limono-sableux à drainage naturel excessif ou légèrement excessif
- espaces d'activité économique, de service et d'équipement communautaire sur sols limoneux à drainage naturel favorable
- forêts et végétation arbustive en mutation sur sols limoneux peu caillouteux à drainage naturel favorable

Il serait judicieux, si un système de suivi des paramètres biologiques doit être mis en place en Wallonie, de sélectionner des sites d'échantillonnages représentatifs de ces combinaisons. Il serait d'autant plus judicieux de sélectionner des sites représentatifs de ces combinaisons types de sols/types d'usage qui appartiendraient déjà à un programme de suivi du sol du point de vue physico-chimique. Notons que pour les sols urbains, cette sélection ne comprend que des sols urbains non pertinents dans le cadre d'un suivi biologique de la qualité des sols (surfaces bâties). Pour ces sols, une sélection des surfaces importantes pourrait être effectuée après élimination des surfaces bâties.

	sols urbains		sols agricoles			sols forestiers			
	Ilots urbains et tissu bâti (superficie, km ²)	Espaces d'activité économique, de service et d'équipement communautaire (superficie, km ²)	Terres arables (superficie, km ²)	Prairies permanentes (superficie, km ²)	Prairies temporaires (superficie, km ²)	Forêts (type non spécifié) (superficie, km ²)	Forêts de feuillus (superficie, km ²)	Forêts de conifères (superficie, km ²)	Forêts et végétation arbustive en mutation (superficie km ²)
Regroupement de complexes de sols de textures différentes ou sur fortes pentes et de sols de fonds de vallons limoneux ou rocailloux	4,925932	2,107167	2,175358	13,196131	0,578934	2,404282	1,338279	0,793668	1,743234
Sols argileux à drainage naturel assez pauvre à très pauvre	1,930040	1,645239	6,298457	30,186141	9,317814	13,786361	13,655571	1,394083	2,296629
Sols argileux à drainage naturel favorable ou imparfait	7,561004	8,909749	26,874492	84,808743	16,497370	31,455816	40,810435	3,662453	5,331505
Sols artificiels ou non cartographiés	365,183378	186,103617	205,106324	329,338207	13,226562	182,927003	169,486586	40,536996	62,391388
Sols limoneux à drainage naturel assez pauvre à très pauvre	16,764978	5,025511	17,424294	88,958807	9,244450	30,665374	33,851830	9,614736	5,155420
Sols limoneux à drainage naturel favorable	180,626153	73,999990	2293,979179	1057,347399	75,754232	195,976489	488,629460	13,975120	28,262974
Sols limoneux à drainage naturel modéré ou imparfait	101,910387	46,974309	642,393090	543,759031	44,222629	123,260727	184,070020	15,470100	12,687930
Sols limoneux peu caillouteux à drainage naturel favorable	21,992932	15,864113	181,633635	606,556053	250,415453	451,879030	181,879436	406,786298	33,698784
Sols limoneux peu caillouteux à drainage naturel principalement modéré à assez pauvre	10,401997	6,528496	29,716601	174,923589	26,582196	93,116074	60,766667	81,727623	14,961904
Sols limono-caillouteux à charge calcaire et à drainage naturel quasi-exclusivement favorable	12,263861	3,564187	22,010311	42,625708	4,617526	23,384361	16,663618	2,488026	7,931927
Sols limono-caillouteux à charge crayeuse et à drainage naturel favorable	0,418652	0,096191	5,430689	0,867151	0,219799	0,104090	0,30328	-	0,037160
Sols limono-caillouteux à charge de grès argilo-calcaire et à drainage naturel favorable à imparfait	0,578363	0,057294	2,370275	0,933496	0,480706	0,762781	0,161616	0,049722	0,190572

Sols limono-caillouteux à charge de silexite ou de gravier ou de conglomérat et à drainage naturel principalement favorable	6,611613	2,373608	7,174989	11,739297	1,363464	3,381421	1,346196	0,479207	0,727822
Sols limono-caillouteux à charge psammitique ou schisto-psammitique et à drainage naturel principalement favorable	18,775470	5,331871	71,860122	89,209722	11,687326	27,723457	25,962185	2,426552	3,489555
Sols limono-caillouteux à charge schisteuse et à drainage naturel principalement favorable	23,357362	5,815235	39,769495	103,535795	14,324264	39,450830	41,740272	7,832539	7,069980
Sols limono-caillouteux à charge schisto-gréseuse ou gréseuse et à drainage naturel favorable	18,970682	5,056892	49,944655	139,963211	18,835278	108,050256	45,510176	94,529992	11,039572
Sols limono-caillouteux à charge schisto-gréseuse ou gréseuse et à drainage naturel modéré à assez pauvre	4,765326	1,117884	6,256565	20,918508	2,124978	11,339325	2,927677	10,469049	2,907050
Sols limono-caillouteux à charge schisto-phylladeuse et à drainage naturel quasi-exclusivement favorable	21,289654	13,314429	119,991392	260,260093	86,200488	165,756748	64,705580	163,090078	24,720436
Sols sableux ou limono-sableux à drainage naturel excessif ou légèrement excessif	24,198728	8,053135	105,205213	70,110065	16,485979	72,734775	94,696980	11,716464	8,644635
Sols sableux ou limono-sableux à drainage naturel principalement modéré ou imparfait	3,802331	0,890176	17,870988	18,306008	3,010969	11,537015	39,900250	0,703205	1,611192
Sols sablo-limoneux à drainage naturel principalement favorable	22,937708	9,862688	210,843585	85,061332	11,894152	20,509125	37,208450	8,716393	3,404578
Sols sablo-limoneux à drainage naturel principalement modéré ou imparfait	22,083070	7,971411	207,509568	132,657657	17,437705	28,252532	33,582661	4,217237	4,220438
Sols tourbeux ou tourbières	0,848831	22,438410	7,811586	117,527521	8570917	299147466	105007616	324,252572	29,634791
Superficie totale (m2)	892198453	433101602	4279650862	4022789665	643093192	1937605338	1683931890	1204932114	272159478
Superficie totale (km2)	892.20	433.11	4279.65	4022.79	643.09	1937.60	1683.93	1204.93	272.16

Tableau 4.1. Superficies occupées par les différents types de sols selon les différents types d'usage (forestier, agricole, urbain)

5. Sols et services écosystémiques

Le sol fournit de nombreux services écosystémiques qui sont définis comme les biens et les services fournissant des avantages (bienfaits, bénéfices) aux populations humaines. D'après le Millenium Ecosystem Assessment (MEA, 2005), les écosystèmes fournissent quatre classes de service (Fig. 5.1.) : les services de **support** (soutien) nécessaires au maintien de tous les autres services tels le recyclage de la matière organique, les cycles des éléments nutritifs, la formation du sol ; les services d'**approvisionnement** en nourriture, eau, bois, fibre ; les services de **régulation** tels la régulation du climat, des flux d'eaux, des maladies, de la qualité de l'eau ou de l'air et les services **culturels** qui englobent la beauté des paysages, les bienfaits spirituels ou récréationnels fournis par les écosystèmes. Dans le cadre de l'étude de la qualité biologique des sols, on ne prend pas en considération les services écosystémiques culturels (Ritz *et al.*, 2009).

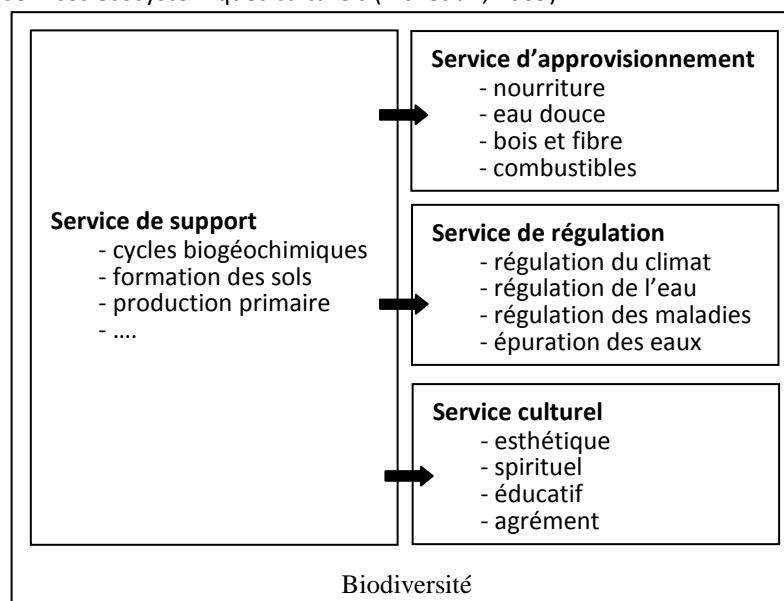


Figure 5.1. Classes de services écosystémiques et services écosystémiques (d'après le Millenium Ecosystem Assessment, 2005)

Il est nécessaire de bien interpréter les différents termes employés dans cette classification pour la prise de décisions concernant la gestion des ressources naturelles (Wallace, 2007 ; Fisher et Turner, 2008). Les difficultés majeures sont inhérentes aux définitions même des services écosystémiques, des fonctions des écosystèmes et des notions de processus (de Groot, 2002 ; MEA, 2005 ; Wallace, 2007 ; Constanza, 2008). C'est pourquoi, nous proposons de définir clairement les différents termes nécessaires à l'utilisation d'une telle classification.

Daily (1997) fait la distinction entre les biens et les services fournis par les écosystèmes. Les biens sont des produits matériels, tangibles qui résultent du fonctionnement des écosystèmes alors que les services sont des améliorations des conditions de l'écosystème (telle la qualité de l'air, celle de l'eau). Constanza *et al.* (1997) ont regroupé les deux classes de bienfaits sous l'appellation « services écosystémiques ». Cette appellation unique a également été employée par de Groot *et al.* (2002) et dans le MEA (2005). La classe de service d'approvisionnement telle que définie par le MEA regroupe l'ensemble des biens fournis par les écosystèmes.

Comme d'autres auteurs (Constanza *et al.*, 1997 ; de Groot *et al.*, 2002 ; Boyd et Banzhaf, 2005 ; Brown *et al.*, 2006), nous pensons qu'une distinction doit être faite entre les services écosystémiques, les processus (fonctions) de l'écosystème et les éléments biologiques permettant aux écosystèmes de rendre des services et de fournir des biens nécessaires au bien être de l'homme. Les processus de l'écosystème peuvent être définis comme les interactions complexes entre les éléments biotiques et abiotiques d'un écosystème aboutissant à un résultat (Tirri *et al.*, 1998). Ces processus impliquent un transfert d'énergie et de matière (Lyons *et al.*, 2005). Les éléments biologiques sont le capital naturel de l'écosystème, c'est-à-dire les choses utiles au fonctionnement de l'écosystème. Les éléments biologiques sont, par définition, comparables aux « actifs de biodiversité » (biodiversity asset) définis par Wallace (2007) comme les organismes vivants ou les communautés d'organismes vivants utiles aux humains. Les services écosystémiques, résultant donc de ces

processus et des éléments biologiques les régulant, soutiennent le bien être de l'homme et maintiennent la qualité des biens fournis par l'écosystème. Le tableau 5.1. fourni quelques exemples illustrant ces définitions. **In fine, les indicateurs de qualité que nous devons sélectionner en fonction de certains critères développés ci-dessous doivent être représentatifs des processus (ou une partie de ceux-ci) ou être des éléments biologiques participant à ces processus.** Par exemple, dans le cas du service écosystémique « cycle des éléments nutritifs », on peut étudier la nitrification qui intervient dans le cycle de l'azote, ou la biomasse microbienne qui régule les cycles biogéochimiques, ou la faune du sol qui régule la population microbienne et donc la disponibilité des éléments nutritifs.

Classes de services	Services écosystémiques/biens	Processus et éléments biologiques
Support	Cycle des éléments nutritifs	Décomposition de la matière organique Biomasse microbienne Bioturbation- vers de terre Régulation population microbienne –faune du sol Nitrification
	Formation du sol	Pédogenèse-bioturbation-vers de terre
Régulation	Qualité de l'air	Respiration du sol-biomasse microbienne Méthanisation Dénitrification
	Qualité de l'eau	Nitrification, minéralisation azote (lessivage nitrates) Détoxification des sols-biomasse microbienne (via leur métabolisme)
Approvisionnement	Approvisionnement en eau	Bioturbation-vers de terre Création de pores –micro-arthropodes

Tableau 5.1. Classes de services écosystémiques, biens et services fournis par l'écosystème, processus et éléments biologiques de l'écosystème (de Groot *et al.*, 2002 ; Lavelle *et al.*, 2006 ; Barrios, 2007 ; Jeffrey *et al.*, 2010).

Le tableau 5.2. décrit l'importance des différents services écosytémiques (biens et services) selon les types d'usage des sols. Les sols forestiers et agricoles fournissent surtout des services de support et d'approvisionnement (biens) alors que les sols urbains fournissent exclusivement des services de régulation. Les sols agricoles et forestiers fournissent également le service de régulation de l'eau (bassins versants en Ardennes et zones de captage en Hesbaye).

Classe de services écosystémiques	Services écosystémiques du sol	Usage agricole	Usage forestier	Usage urbain
Approvisionnement	Approvisionnement en nourriture	+++	+	
	Approvisionnement en bois		+++	
	Approvisionnement en eau (stockage)	++	++	
Régulation	Régulation eau (qualité et quantité)	+++	+++	++
	Régulation de l'air (qualité)	++	++	
	Régulation maladie et pestes	++		
	Régulation érosion	+	++	
	Régulation polluants (pesticides, insecticides, polluants divers)	++	+	+++
	Régulation perturbation (tempête, ...)		+	
Support	Cycle des éléments nutritifs	+++	+++	
	Formation du sol	+++	+++	

Tableau 5.2. Importance des différents services écosystémiques du sol selon les types d'usage du sol. +++ : services prépondérants, ++ : services importants ; + : services de moindre importance (à partir de Costanza *et al.*, 1997 ; de Groot *et al.*, 2002 ; Swinton *et al.*, 2007 ; Haygarth et Ritz, 2009 ; Power, 2010).

Le tableau ci-dessous (Tableau 5.3.) reprend les services prioritaires selon les types d'usage, les processus représentatifs ainsi que les indicateurs pouvant refléter ces processus.

Services écosystémiques/biens	Processus	Indicateurs biologiques du sol	Type d'usage
Approvisionnement en nourriture	Production primaire	Biomasse microbienne Respiration induite par le substrat Nématodes	Agricole
Approvisionnement en bois	Production primaire	Biomasse microbienne Respiration induite par le substrat Nématodes	Forestier
Régulation eau (qualité et quantité)	Nitrification Minéralisation de l'azote Détoxification des sols Dynamique de la structure du sol (porosité)	Nitrification nette Minéralisation nette de l'azote Biomasse microbienne Vers de terre-bioturbation Création de pores-micro-arthropodes	Agricole, forestier
Régulation des déchets	Détoxification des sols	Biomasse microbienne	Urbain
Cycle des éléments nutritifs	Activités biologiques liées au cycle de l'azote Activités liées au cycle du carbone	Minéralisation nette azote Nitrification nette Dénitrification potentielle Activité enzymatique liée N Fixation de l'azote Décomposition matière organique- protozoaire, nématode, faune du sol Biomasse microbienne Respiration basale Respiration induite par le substrat Activité enzymatique liée au cycle du carbone Diversité métabolique (Biolog) Quotient métabolique Quotient microbien	Agricole, forestier
Formation du sol	Pédogenèse Dissolution minéraux Formation des agrégats	Bioturbation-vers de terre Production acide par certains micro-organismes -étude de la diversité de ceux-ci Biomasse microbienne	Agricole, forestier

Tableau 5.3. Services écosystémiques/biens, processus et indicateurs relatifs aux services écosystémiques prioritaires selon les différents types d'usage des sols (Hendrix *et al.*, 1990 ; Svensson, 2002 ; Zwolinski, 2004 ; Lavelle *et al.*, 2006 ; Jeffery *et al.*, 2010,).

6. Etat des lieux des outils d'évaluation de la qualité biologique des sols existant dans les pays/régions voisin(e)s

Ce chapitre a été rédigé par le bureau d'étude Ram-Ses, sous-traitant de la présente convention.

6.1. Introduction

Un état des lieux à propos des outils d'évaluation de la qualité biologique des sols existant dans les pays/régions voisin(e)s de la Belgique/Région wallonne a été réalisé dans la triple optique :

- d'évaluer l'état des connaissances et des pratiques actuelles en matière de suivi de la qualité biologique des sols dans différents pays voisins, afin d'apprécier leur degré convergence, à l'heure actuelle et pour le futur (tendances générales, projets d'harmonisation,...);
- de fournir des références et une synthèse des approches utiles pour l'identification des outils, des méthodes et des stratégies générales potentiellement applicables en Région wallonne, pour le suivi de la qualité des sols (bioindicateurs, indicateurs biologiques de la qualité des sols) et de leur qualité biologique en particulier (indicateurs de la qualité biologique des sols ;
- de cerner, pour les différents réseaux de suivi de la qualité biologique des sols déjà en place, les raisonnements et les méthodes qui sont à la base des choix d'indicateurs, compte tenu des objectifs stratégiques poursuivis (politiques sur les sols).

Le travail a procédé par exploration de la documentation technique spécialisée et par enquête. Il a rapidement montré la très grande abondance des travaux et des initiatives prises dans les différents pays, et spécialement en Europe, dans le domaine de l'examen de la qualité biologique des sols au cours de ces 10 à 15 dernières années. Ces 5 dernières années tout spécialement, sous l'impulsion conjointe de la stratégie thématique pour la protection des sols engagée à l'échelle européenne (Commission Européenne, 2006), et des programmes internationaux consacrés aux enjeux de la biodiversité (UNEP, *Millenium Ecosystem Assessment* et la Convention sur la Diversité Biologique) ou consacrés aux enjeux de pratiques agricoles durables (OCDE, FAO), de nombreux travaux ont été engagés dans la perspective du développement d'indicateurs opérationnels à propos de la qualité biologique des sols, de la diversité biologique/biodiversité des sols et des performances du sol en matière de services écosystémiques. Parallèlement, de multiples ateliers ont été tenus, à des échelles nationale et internationale, dans la perspective de croiser les visions des parties intéressées et définir les liaisons entre les objectifs stratégiques des politiques sur les sols (politiques nationales et projets à l'échelle internationale, tel que le projet de directive cadre pour la protection des sols), les plans d'action et outils de suivi en matière de qualité biologique des sols.

L'état des lieux réalisé a tenté de rendre compte de cette dynamique. Il a pu bénéficier pour ce faire de plusieurs ouvrages et articles de synthèse récents. Plusieurs de ceux-ci – dont notamment le récent rapport de la Commission Européenne « Soil biodiversity: functions, threats and tools for policy makers » cité ci-après au point 2 – ont été rédigés dans la perspective de sensibiliser les décideurs politiques aux enjeux de la biodiversité des sols, notamment au travers de ses liens avec la biodiversité au sens large (2010 étant l'année internationale pour la biodiversité), ses contributions aux services écosystémiques et son rôle pour la durabilité de la société humaine d'une façon générale.

Les résultats du travail (rapport d'état des lieux) figurent en annexe du présent rapport (annexe 1). Le présent chapitre fournit une vue d'ensemble des résultats et reprend sous forme de synthèse les points qui constituent les acquis essentiels au regard des trois principaux objectifs poursuivis, tels que cités ci-dessus.

6.2. Méthodes

La réalisation de l'état des lieux a eu lieu dans le courant des mois de décembre 2009 à février 2010, à la fois :

- par exploration et analyse de la bibliographie et de la documentation technique spécialisée,
- et par enquête auprès de personnes de contact, dans les différents pays étudiés.

L'analyse documentaire a pu bénéficier de plusieurs travaux de synthèses et compilations de travaux scientifiques récemment publiés. Il s'agit notamment :

du rapport de la Commission Européenne DG ENV : « Soil biodiversity: functions, threats and tools for policy makers » (Turbé *et al.* 2010) ;

du numéro thématique : « Programme ADEME – Bioindicateurs de qualité des sols » publié par la revue de l'Association Française de l'Etude des Sols (AFES): *Etude et Gestion des Sols*, Vol. 16 N° 3/4, 2009 ;

- du volume 60 (2009) de la Revue *European Journal of Soil Science*, qui a réuni plusieurs articles de synthèse sur les outils et réseaux nationaux de suivi de la qualité biologique des sols ou biodiversité des sols ;
- du numéro thématique : « Ecological Soil Quality - Classification and Assessment », publié par la revue *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Volume 62 (2), pages 145-308, en 2005 ;
- du livre : « Vital Soil, Function, Value and Properties » publié chez Elsevier dans la série « Developments in Soil Science », Vol. 29, en 2004 (Doelman et Eysackers, 2004);
- du numéro thématique : « Biotic indicators for biodiversity and sustainable agriculture », publié par la revue *Agriculture, Ecosystems and Environment* Vol. 98, Nos. 1-3, en 2003 ;
- des rapports d'ateliers internationaux :
- Atelier : «Biodiversity –Bioindication to evaluate soil health» (Projet Bio-Bio) tenu à Ispra en juin 2006 (Cenci et Sena, 2006);
- « Agricultural impacts on soil erosion and soil biodiversity : developing Indicators for policy analyses » tenu en mars 2003 à Rome sous l'égide de l'OCDE (OECD, 2003).

S'agissant plus spécifiquement de l'exploration des réseaux de suivi de la qualité biologique des sols en place dans les différents pays, trois études / groupes d'études de synthèse ont pu être exploité(s) :

- Un inventaire au niveau mondial à propos des programmes/réseaux de mesures de la qualité des sols existants, réalisé en 2003 à la demande du Ministère de l'Agriculture et Développement Rural de la province d'Alberta (AESA, Alberta Environmentally Sustainable Agriculture) au Canada (Winder, 2003)¹.
- Les rapports de synthèse du projet européen ENVASSO² (en particulier les volumes IIa et IIb consacrés à l'inventaire et à l'analyse des réseaux de surveillance existants au sein de l'UE, parmi lesquels les réseaux consacrés à la surveillance des « *pertes de biodiversité*³ » des sols).
- Le rapport du groupe thématique de travail TWG4 établi dans le contexte de la stratégie thématique de la Commission Européenne pour la protection des sols, consacré à la matière organique et biodiversité des sols (Van Camp *et al.*, 2004 (a))⁴.

Les états des lieux ont été dressés tout d'abord au niveau des différents pays et Régions en Europe et ensuite à l'échelle de l'Union Européenne.

Au niveau des pays/régions, les travaux ont porté d'une façon large sur les politiques et programmes en place, les réseaux de mesure éventuels et outils de mesure de la qualité biologique des sols mis en œuvre, en ce compris les outils déclarés comme visant la biodiversité du sol. Les analyses ont été portées successivement sur les situations aux Pays-Bas, en France, en Suisse, au Royaume-Uni, Allemagne. Avec moins de détail, les situations existant en Italie, Hongrie, Autriche et Danemark ont pu également faire l'objet d'un examen. Pour chaque pays, les travaux ont tenté de cerner successivement :

- le cadre politique et les objectifs stratégiques poursuivis
- les caractéristiques générales du/des réseau(x) existant(s)
- les indicateurs mis en œuvre ou proposés
- les bases scientifiques justifiant les indicateurs
- les résultats actuels
- les perspectives

Pour chaque pays, on a également cherché à épingler les initiatives éventuelles (recherche, communication, organisation générale en lien avec les réseaux) présentant un intérêt potentiel dans la perspective d'une mise en œuvre d'une politique de surveillance de la qualité biologique des sols en Wallonie.

A l'échelle de l'Union Européenne, l'état des lieux s'est attaché à analyser les perspectives qui se dégagent actuellement du croisement et de l'intégration des visions des principaux acteurs et experts (recommandations

¹ Ce rapport est disponible sur : [http://www1.agric.gov.ab.ca/\\$department/deptdocs.nsf/all/aesa8549](http://www1.agric.gov.ab.ca/$department/deptdocs.nsf/all/aesa8549).

² ENVASSO est un projet d'action concertée financé dans le 6^e programme cadre de recherche et développement de l'Union Européenne et qui a réuni 37 partenaires issus de 25 pays de l'UE. Le projet vise à proposer un cadre commun pour l'harmonisation de la surveillance des sols en Europe. Il aborde les huit menaces pour les sols identifiées par la Stratégie thématique pour la protection des sols en Europe : érosion, diminution de la teneur en matière organique, contamination, tassement, salinisation, perte de la biodiversité, imperméabilisation, inondation et glissement de terrains. Les rapports sont disponibles depuis : <http://www.envasso.com/content/links.html> ou depuis le [Portail des Sols du JRC](#)).

³ La *perte de biodiversité des sols* est définie dans le projet ENVASSO comme la réduction des formes de vie dans le sol – à la fois en termes de quantité et de variété – et des fonctions associées.

⁴ Ce rapport comporte une section consacrée à la biodiversité des sols qui fait le point sur les réseaux existants (en 2003) et trace les enjeux et perspectives - sous forme de recommandations - pour le développement d'un système de surveillance à l'échelle européenne. Le rapport est disponible depuis : http://ec.europa.eu/environment/soil/index_en.htm .

issues des travaux du Groupe de Travail « Biodiversité du sol » mis en place dans le cadre des travaux préparatoires au projet de la directive cadre sur la protection des sols et recommandations du projet ENVASSO).

6.3. Résultats et analyses

La présente section fournit une vision d'ensemble des principaux résultats et des analyses faites à propos de l'existant dans les différents pays en Europe, et des tendances et perspectives développées à l'échelle de l'UE. Les résultats du travail figurent dans leur intégralité dans le « rapport d'état des lieux » repris en annexe du présent rapport.

6.3.1. Vue d'ensemble des différents réseaux de mesure de paramètres biologiques du sol

De l'examen d'ensemble des situations qui prévalent dans les différents pays et à l'échelle de l'UE, il ressort que de très nombreuses ressources et expériences en matière de développement d'indicateurs de la qualité biologique des sols et de mise en place de réseau de surveillance de la qualité biologique et biodiversité des sols existent déjà actuellement. En matière de réseaux de surveillance, on peut globalement distinguer :

1. Les systèmes de surveillance déjà en place au niveau national, qui s'inscrivent comme instrument au service d'objectifs stratégiques explicitement définis dans des textes à caractère réglementaire sur la politique des sols. Il ressort du travail d'exploration réalisé que de tels réseaux n'existent encore que dans un nombre limité de pays en Europe. Parmi ceux-ci, il y a lieu de citer en priorité les Pays-Bas, qui ont développé en 1997 un réseau de mesure de la qualité des sols de portée nationale (DSMN, Dutch Soil Monitoring Network) incluant le suivi de paramètres biologiques sur une série de 200 parcelles. Ces paramètres constituent une série diversifiée de 12 indicateurs (variables indicatives) répondant à des objectifs stratégiques bien définis et un programme fixé par le ministère de l'environnement (VROM). La Suisse est sur le point d'aboutir, d'ici ces prochaines années, à un stade plus ou moins analogue avec le démarrage attendu du réseau NABObio (portant sur la surveillance de la qualité biologique) au sein de l'actuel réseau national de surveillance (Observatoire National des Sols - NABO), et l'inscription prévue dans l'Ordonnance Suisse sur la protection des sols de valeurs indicatives permettant l'interprétation des résultats des mesures des paramètres biologiques.
2. Les systèmes de surveillance en développement au niveau national qui sont au stade de tests (réseaux pilotes), de façon à vérifier la sensibilité et robustesse des indicateurs sélectionnés et/ou pour la recherche de données de référence pour l'interprétation des mesures : les situations décrites dans le rapport « état des lieux » pour la France, le Royaume-Uni, l'Allemagne et l'Italie sont globalement de ce type.
3. Les systèmes de surveillance déjà fonctionnels à des échelles régionales, dans certains cantons (Suisse) ou Länder (Allemagne), mis en place à l'initiative propre des responsables régionaux.
4. Les systèmes de surveillance mis en place sur des objets thématiques précis (à l'instar par exemple du réseau pour le suivi des épandages de boues résiduelles en forêt, en France).
5. Les propositions de travail formulées à l'échelle européenne, dans la perspective du développement d'une politique européenne pour la protection des sols (stratégie thématique et projet de directive cadre) et pour l'évaluation des pertes de biodiversité des sols (propositions issues du projet FP6 ENVASSO).

Malgré l'abondance des initiatives, notamment en matière de sensibilisation citoyenne et politique, et la multiplicité des recherches effectuées dans la thématique, il faut souligner que, globalement, l'utilisation de paramètres biologiques dans les programmes de surveillance de la qualité des sols reste encore à ce stade relativement limitée⁵.

6.3.2. Les objectifs et perspectives stratégiques dans lesquelles s'inscrivent les différents réseaux

D'une façon générale, on peut avancer que tous les réseaux de surveillance mis en place résultent de la prise de conscience conjointe :

- des pressions de dégradation croissantes auxquelles sont soumis les sols ;

⁵ Il faut noter qu'indépendamment de la prise en compte ou non de paramètres biologiques, l'existence-même de réseaux de suivi de la qualité des sols de portée nationale est déjà limitée en Europe à quelques Etats-Membres, et avec des réseaux aux caractéristiques (densité des points, paramètres suivis, fréquence) sensiblement distinctes (Arrouays et al., 2008 (a) ; Van Camp et al., 2004 (b)).

- du rôle fondamental de la composante biologique des sols dans les fonctions parmi les plus essentielles que le sol assure (décomposition de la matière organique (des résidus animaux et végétaux), transformation et stockage de nutriments, échanges gazeux et hydriques, formation et stabilisation de la structure des sols, synthèse des composés humiques, dégradation des molécules xénobiotiques) et pour le fonctionnement des écosystèmes en général ;
- des lacunes existant dans les données de base à propos des communautés et populations biologiques du sol caractéristiques des différents écosystèmes et dans la connaissance des impacts des différentes pressions existantes qui pourraient déjà être mesurables sur les organismes et les fonctions écologiques/services écosystémiques qu'ils assurent.

Il s'ensuit que les réseaux de portée nationale existants s'inscrivent dans le long terme et poursuivent toujours plus ou moins simultanément un objectif stratégique de surveillance et de prévention (pour définir, suffisamment tôt compte tenu des temps de réponse, des plans d'action et mettre en place des mesures correctrices) et un objectif scientifique d'acquisition de données utiles au progrès des connaissances à propos de la composante biologique des sols et de ses fonctions spécifiques.

Indépendamment de ces perspectives générales communes, on peut (très globalement) distinguer différentes tendances dans les objectifs stratégiques poursuivis et les « moteurs » - généralement à la fois d'ordre politique et scientifique - qui sont/ont été à la base des réseaux :

- A l'exemple du réseau anglais MASQ (*Monitoring and Assessing Soil Quality*, cf. rapport d'état des lieux en annexe, section 2.4.2.2.) et du système de surveillance BBSK (*Bodenbiologische Standortklassifikation*) en Allemagne (rapport d'état des lieux, section 2.5.1.1.), certains réseaux ont été mis en place avec pour objectif premier de fournir des données de base sur la structure des communautés et populations biologiques du sol spécifiques des différents types de sol, types d'usage du sol, et des caractéristiques climatiques. En Allemagne, le système BBSK est ainsi orienté sur la classification écologique des sols et est considéré comme système potentiellement performant pour évaluer la fonction d'« habitat » des sols » que la loi fédérale pour la protection des sols impose explicitement de protéger (BBodSchG, 1998). Au Royaume-Uni, le réseau MASQ (intégré dans le programme de surveillance « Countryside Survey ») répond à l'objectif stratégique de fournir des données pour les invertébrés du sol et les communautés microbiennes sur un réseau maillé de 256 sites dimensionné de façon à couvrir les principaux types de paysage, types d'occupation des sols, et les principaux groupes taxonomiques de sol.
- A l'exemple du réseau suisse NABO (rapport d'état des lieux, section 2.3.1.1.), certains dispositifs de surveillance répondent plus explicitement à l'objectif stratégique de constituer un observatoire général de la qualité des sols et de l'évolution possible de la qualité des sols au cours du temps : les mesures des paramètres biologiques s'y inscrivent pour leur fonction d'indicateur de la qualité biologique des sols, au même titre que les indicateurs « chimiques » et « physiques » et en complément de ceux-ci.
- Aux Pays-Bas, le réseau DSMN (200 sites, rapport d'état des lieux, section 2.1.1.) a directement intégré la mesure de paramètres biologiques et son système prévu pour l'interprétation des valeurs BISQ (*Biological Indicator for Soil Quality*). La spécificité de l'approche stratégique tient dans le fait d'avoir couplé à la fonction générale d'observatoire de la qualité des sols une fonction d'appréhension spécifique de l'état des performances des fonctions écologiques des sols⁶ (le système BISQ répond notamment à l'objectif de fournir une vision intégrée de l'état écologique du sol) et une fonction de compréhension générale des relations existant entre les pressions de dégradation (e.a. aux Pays-Bas la pollution et certaines pratiques agricoles), les réponses mesurables au niveau des organismes biologiques (biomasse, abondance, activité, et diversité taxonomique) et l'état des fonctions écologiques qu'ils assurent (compte tenu des différents types d'utilisation).
- Plus récemment, à l'exemple de l'impulsion donnée sur la politique des sols par le gouvernement des Pays-Bas en 2003, certains réseaux en cours (Pays-Bas) ou en développement (UK) ont pu s'aligner plus spécifiquement sur les objectifs stratégiques conjoints :

⁶ Ces fonctions ont été explicitement définies comme : la décomposition de la matière organique (perçue comme la fonction principale), le cycle des nutriments, la disponibilité des nutriments pour plantes, la formation de la structure des sols et la stabilité de l'écosystème sol.

- de fournir des arguments et un appui pour promouvoir des modes de gestion des sols plus durables, assurant le maintien, actuel et pour le futur, de services écosystémiques⁷ performants,
- d'évaluer la biodiversité des sols⁸ (et son possible déclin sous l'effet des pressions exercées sur les sols), compte tenu notamment de ses enjeux pour la biodiversité au sens large, et de ses contributions aux services écosystémiques.

6.3.3. Les indicateurs et principes pour l'interprétation des mesures

6.3.3.1. Types d'indicateurs

Les enjeux d'une approche harmonisée et commune, au niveau européen, pour le suivi de la qualité biologique et de la biodiversité des sols n'ont été mis en évidence que récemment, sous l'impulsion du projet de directive cadre pour la protection des sols et des actions (e.a. le projet Action Sol au niveau JRC) mises en place dans la perspective de la mise en œuvre de la stratégie thématique pour les sols. Jusqu'ici les programmes de suivi de la qualité biologique des sols ont ainsi relevé de l'initiative propre de certains pays (ou au sein de pays, de l'initiative de certaines régions). En conséquence les séries d'indicateurs mis en œuvre à ce jour de même que leurs méthodes d'établissement (échantillonnage et mesure) sont dans une large mesure spécifiques des différents programmes, et de leurs finalités stratégiques propres.

Sur base du tableau 6.1. ci-dessous, qui fournit une vision synoptique des indicateurs mis en œuvre dans les différents réseaux (en incluant certains réseaux en cours de démarrage, comme en Suisse, ou qui relèvent encore de la recherche mais qui ont déjà une portée nationale, à l'instar du projet ECOMIC-RMQS en France) on peut néanmoins dégager des tendances à propos des types de mesure auxquels il est le plus souvent fait recours.

On peut ainsi mettre en évidence que les paramètres microbiens sont mis en œuvre dans l'ensemble des réseaux. Parmi ceux-ci, il y a lieu de distinguer les mesures portant sur l'ensemble des microorganismes du sol telles que les mesures de biomasse microbienne par fumigation-extraction, et les mesures de l'activité microbienne comme la mesure de la respiration en conditions standards (respiration basale) qui permet de calculer un flux de C-CO₂ par unité de biomasse et par unité de temps (quotient métabolique). Selon Chaussod (1996), ces mesures ont un intérêt pratique pour l'étude de la composante « fertilité » des sols (fonction de production des sols et potentialités agronomiques), notamment en ce qu'elles permettent d'établir les relations entre biomasse microbienne, activité biologique et cinétiques de transformation du carbone. Elles figurent parmi les méthodes biologiques les plus fiables, praticables en routine et interprétables dans une majorité de situations.

En complément de ces mesures, plusieurs réseaux mettent en œuvre des paramètres indicateurs ciblant certaines fonctions microbiennes d'importance particulière (minéralisation de l'azote et nitrification) et d'autres ciblant plus particulièrement la diversité fonctionnelle et/ou structurelle des communautés microbiennes. A ce titre il faut citer le recours aux tests BIOLOG mis en œuvre aux Pays-Bas et au Royaume-Uni, ainsi que le recours aux nouvelles méthodes moléculaires fondées sur l'extraction d'acides nucléiques (ADN ou ARN) et l'établissement d'empreintes génétiques. Ces méthodes ont le potentiel de caractériser la diversité et la structure des communautés microbiennes en fonction des conditions pédo-climatiques et types d'utilisation des sols, ainsi que d'identifier les populations qui seraient associées à des perturbations environnementales (Ranjard, 2000 ; Gardi *et al.*, 2009). Reconnues comme étant encore en développement ces méthodes (PCR quantitative, puces à ADN) sont évaluées comme prometteuses (les techniques conventionnelles d'examen de la diversité microbienne par mise en culture ne permettant d'approcher qu'une fraction minime – estimée à moins de 1% - des communautés de bactéries du sol, Zhang et Xu, 2008). Elles sont ainsi déjà utilisées en France de façon systématique à l'échelle nationale dans le cadre du projet scientifique RMQS-ECOMIC.

⁷ Les services écosystémiques du sol retenus aux Pays-Bas sont les suivants (Rutgers et al, 2009 (a)) : (1) les services de production (rétention et libération des nutriments, la formation de structure du sol, et le contrôle des maladies), (2) les services de résistance et résilience et adaptabilité à de nouveaux usages, (3) les services environnementaux (fragmentation et minéralisation de la matière organique fraîche, atténuation naturelle de substances dangereuses, rétention-relargage-transport de l'eau, régulation du climat), les services d'habitat (biodiversité du sol).

⁸ La biodiversité du sol fait référence à l'ensemble du capital écologique du sol. La perte de biodiversité des sols peut être définie (ENVASSO) comme la réduction des formes de vie dans le sol - en termes de quantité et de variété - et des fonctions associées.

Pays	Acronyme du réseau	Indicateurs mis en oeuvre	
		Paramètres microbiens	Paramètres faunistiques
Pays-Bas ⁽¹⁾	DSMN	-Biomasse bactérienne (comptage microscopique) -Activité métabolique et diversité fonctionnelle des bactéries (tests BIOLOG) -Diversité génétique des bactéries (empreintes ADN par la méthode de Polymorphisme(PCR-DGGE) -Champignons : diversité des espèces par groupes fonctionnels -Taux de croissance microbienne (assimilation ¹⁴ C-leucine et ³ H-thymidine) -Activité des protozoaires (comptage des kystes actifs et inactifs) -Minéralisation potentielle de l'azote (par incubation et mesure N minéral) -Minéralisation potentielle du carbone (consommation oxygène) -Nitrification	- Vers de terre et enchytréides (identification taxonomique (espèce ou genre, abondance et biomasse des différentes espèces) -Micro-arthropode (nb. espèces par groupe fonctionnel, identification taxonomique (genre, espèce) -Nématodes (nombre, identification taxonomique (genre), classification par groupes trophiques)
Suisse ⁽²⁾	NABO	-Biomasse microbienne (méthode de la « respiration induite par le substrat » (SIR), méthode de l'extraction par fumigation (FE-C et FE-N), et dosage de l'ATP) -Respiration basale et quotient métabolique ⁹ (qCO ₂) -Minéralisation potentielle de l'azote (par incubation et mesure N minéral) -Minéralisation potentielle du carbone (mesure du CO ₂ libéré durant 15 jours d'incubation)	-Vers de terre (diversité et distribution des espèces, abondance et biomasse des différentes espèces)
Royaume-Uni ⁽³⁾	Countryside Survey / MASQ	-Extraction et énumération des bactéries hétérotrophes -Activité métabolique et diversité fonctionnelle des bactéries (BIOLOG)	-Invertébrés (diversité et distribution des espèces, abondance et biomasse des différentes espèces ou de différents taxons)
France ⁽⁴⁾	ECOMIC-RMQS	-Biomasse (extraction ADN) et diversité microbienne (ARISA)	
Allemagne ⁽⁵⁾	(Réseaux des différents Länders)	-Biomasse microbienne -Respiration basale et quotient métabolique (qCO ₂)	-Vers de terre : abondance et diversité
	BBSK (50 parcelles permanentes)		- Large spectre d'organismes du sol

⁹ quotient métabolique qCO₂ : activité respiratoire spécifique de la biomasse microbienne

Pays	Acronyme du réseau	Indicateurs mis en oeuvre	
		Paramètres microbiens	Paramètres faunistiques
Italie ⁽⁶⁾ Italie ⁽⁷⁾	Région du Latium (Différentes régions et provinces)	-Minéralisation potentielle du carbone -Carbone microbien (méthode de l'extraction par fumigation au chloroforme) -Respiration basale et quotient métabolique	-Diversité des microarthropodes -Collembolés : formes écomorphologiques
Hongrie ⁽⁸⁾		-Vitesse de décomposition de la cellulose -Potentiel de dénitrification -Activité enzymatique (déhydrogénase) -Biomasse microbienne (méthode de la respiration induite par le substrat (SIR))	
Autriche ⁽⁹⁾		-Biomasse microbienne (méthode de référence non précisée) ; - Potentiel de dénitrification ; - Minéralisation de l'azote ; - Activités enzymatiques (arylsulfatase, phosphatase, protéase, uréase, xylanase) ;	-Vers de terre et enchytréides : relevés faunistiques
Tchéquie ⁽¹⁰⁾		-Biomasse microbienne (méthode de référence non précisée) ; - C et N de la biomasse microbienne -Respiration basale -Minéralisation de l'azote -Nitrification	

Tableau 6.1. Tableau synoptique présentant les principaux indicateurs/paramètres d'analyse biologiques des sols mis en œuvre dans différents réseaux de surveillance de portée nationale sur la qualité des sols existant en Europe. (NB : Pour la Suisse, il s'agit des propositions du groupe de travail BSA (Groupe de travail Biologie du Sol – application / Vollzug BodenBiologie, cf. rapport d'état des lieux, section 2.3.1.1), fondées notamment sur les paramètres déjà suivis dans certains cantons).

Sources : (1) Schouten *et al.*, 1997 ; Rutgers *et al.*, 2009 ; (2) VBB-BSA, 2009 ; (3) Black *et al.*, 2002 ; (4) Dequiedt *et al.*, 2009 ; (5) Römcke & Breure, 2005 ; Gardi *et al.*, 2009 ; Turbé *et al.*, 2010 ; (6) Benedetti *et al.*, 2008 ; (7) Parisi *et al.*, 2005 ; Leoni & Menta, 2008 ; (8) et (9) Arrouays *et al.*, 2008 (b) ; (10) Turbé *et al.*, 2010.

S'agissant des paramètres faunistiques, les indicateurs sont basés soit sur des groupes d'organismes individuels soit sur l'ensemble de la communauté des organismes du sol, cette seconde démarche pouvant être privilégiée dans les approches stratégiques visant plus spécifiquement la classification écologique des sols ou la biodiversité des sols.

Concernant le suivi des groupes d'organismes individuels, les vers de terre, mesurés pour leur abondance et diversité des espèces, semblent figurer au titre des groupes d'organismes les plus suivis (tableau 7.1). Selon Van Camp *et al.* (2004), les raisons sont à retrouver dans le fait qu'ils se retrouvent en grand nombre dans la plupart des situations, qu'ils constituent un groupe qui n'est pas trop diversifié, qu'ils sont aisés à caractériser et à compter et font l'objet d'un intérêt convergent de la plupart des parties intéressées : intérêt propre, d'une part, pour leur rôle favorable sur la structure du sol (intérêt des agriculteurs), sur la biodiversité du sol (en tant qu' « ingénieurs des écosystèmes ») et la biodiversité au sens large (en tant que source de nourriture pour les

espèces vivant au-dessus du sol), et intérêt en tant qu'indicateur de la qualité et qualité biologique des sols en raison de leur sensibilité aux différents types de sols et types d'usage, et sensibilité aux pressions de dégradation, dont la pollution des sols.

Concernant le suivi des communautés biologiques, l'approche générale se fonde sur le principe que des sols similaires, utilisés selon des modes similaires et dans des conditions climatiques similaires doivent avoir une faune du sol similaire. Une communauté biologique de référence doit ainsi pouvoir être définie pour chaque type de situation, par rapport à laquelle il est possible de faire des comparaisons. D'une façon générale (Gardi *et al.*, 2009 ; Turbé *et al.*, 2010), ces méthodes n'ont pas atteint le stade d'une utilisation en routine¹⁰ dans le cadre de réseaux nationaux de surveillance en raison de leurs coûts de mise en oeuvre, leurs exigences en compétences (spécialistes en taxonomie des espèces biologiques des sols), et des difficultés qui demeurent pour l'interprétation des résultats (le nombre de facteurs abiotiques à prendre en compte pour la définition des situations de référence pouvant avoir été sous-estimé). En conséquence les réseaux ont tendance à se ranger sur le suivi (composition des espèces, nombres et biomasses) d'un nombre limité de groupes d'organismes parmi lesquels il y a lieu de citer, outre les vers de terre : les enchytréides, les nématodes (également reconnus pour être très indicatifs du statut des sols) et les micro-arthropodes (acariens et collemboles) ; ces organismes formant, dans les régions tempérées, les groupes les plus représentatifs d'invertébrés en terme d'abondance numérique et biomasse totale.

Il ressort néanmoins de la revue de l'état des lieux réalisée que seuls les Pays-Bas – dont le réseau poursuit explicitement, parmi ses objectifs, celui de surveiller les éventuelles pertes en matière de biodiversité des sols - auraient à ce jour développé un réseau de surveillance de portée nationale qui soit fondé, au-delà des paramètres microbiens, sur le suivi parallèle de l'ensemble de ces grands groupes taxonomiques (vers de terre, enchytréides, nématodes, acariens et collemboles). A l'échelle de l'UE, les préoccupations croissantes de plusieurs groupes d'acteurs – dont la Commission Européenne – à propos de la perte de biodiversité des sols on pu aboutir sur la recommandation d'assurer, au-delà des paramètres microbiens, au minimum un suivi conjoint des deux grands groupes fonctionnels : les « régulateurs biologiques » (p.ex. nématodes ou collemboles) et les « ingénieurs des écosystèmes » (vers de terre) (Kibblewhite *et al.*, 2008 ; Turbé *et al.* 2010).

6.3.3.2. Principes d'interprétation des mesures

Un autre fait essentiel qui ressort du travail d'exploration réalisé est la difficulté communément mise en évidence dans les différents pays pour disposer de systèmes de valeurs de référence permettant l'interprétation des mesures dans les échelles générales de qualité allant de « bonne » à « mauvaise », ou dans des échelles qui permettent au minimum une interprétation des tendances. D'une façon générale, cette difficulté tient dans la variabilité naturelle des réponses des indicateurs selon les types de sol, types d'usage et variables climatiques. Il y a donc lieu, dans les différents pays et régions, d'appréhender spécifiquement ces variations afin de disposer pour chaque indicateur de jeux de valeurs de référence.

A ce jour, il ressort de l'état des lieux qu'au moins les Pays-Bas (en appui au réseau national DSMN) et la Suisse (pour les paramètres microbiens, en appui du réseau en démarrage NABO-Bio) ont pu établir de tels systèmes de référence, tandis que d'autres pays/régions ont pu également établir des grilles d'interprétation à titre de projet (e.a. en Italie).

Aux Pays-Bas, les références pour l'interprétation des mesures sur la qualité biologique des sols sont constituées des mesures se rapportant aux situations estimées par jugement d'expert comme des situations idéales. Ces références sont établies pour une série de 10 combinaisons de types de sol et types d'usage les plus représentatifs aux Pays-Bas. Par ailleurs, on utilise aussi à titre de données de comparaison pour l'interprétation des mesures les paramètres statistiques de moyenne, 5^{ème} percentile et 95^{ème} percentile établis à l'échelle nationale.

Dans le système suisse (NABO-Bio), deux types d'aides à l'interprétation sont fournis :

- 1) les valeurs de comparaison, qui expriment la moyenne et la variabilité de l'ensemble des valeurs mesurées pour un paramètre, sans tenir compte des caractéristiques pédologiques du site : elles permettent une appréciation générale des mesures et de repérer les valeurs basses, élevées ou aberrantes;

¹⁰ Le projet MASQ (Motiroring and assessing soil Quality in Great Britain) inclus dans le programme de surveillance du Royaume-Uni « Countryside Survey » pourrait éventuellement être cité à titre d'exception. Ce réseau n'a toutefois été échantillonné que 2 fois (1998 et 2007).

- 2) les valeurs de référence, qui permettent une appréciation différenciée, spécifique au site, des valeurs mesurées pour un paramètre, en faisant entrer dans le calcul les caractéristiques pédologiques du site qui exercent une influence.

Les valeurs de référence ont été obtenues par modélisation (régressions non linéaires sur base des données d'observations obtenues durant la phase de mise au point, et aboutissant à des fonctions de pédo-transfert). Elles n'ont à ce stade été obtenues que pour un certain nombre de paramètres pour lesquels les données d'observation existent en quantité suffisante (paramètres microbiens tels que la biomasse microbienne, la respiration basale, le quotient métabolique, le quotient microbien

S'agissant de l'interprétation des données des mesures biologiques dans leur ensemble, ou de l'interprétation des données d'ensemble sur la qualité des sols, en incluant des paramètres abiotiques, l'approche BISQ (*Biological Indicator for Soil Quality*) développée aux Pays-Bas semble fournir à ce jour une des références méthodologiques parmi les plus cohérentes. Le concept BISQ est basé sur le double principe :

- 1) d'appréhender les différentes fonctions écologiques des sols¹¹ (ou ,dans le cadre d'une démarche méthodologique plus récente, les services écosystémiques¹² du sol) par un nombre défini d'indicateurs cohérents - pour chaque fonction écologique ou chaque service écosystémique – par rapport aux différents processus entrant en ligne de compte ;
- 2) de permettre une interprétation d'ensemble des résultats en recourant à une présentation graphique de type « diagramme radar » (*AMOEBE Algemene Methode voor OEcosysteem BESchrijving en BEoordeling*) (Schouten *et al.*, 1999 ; Breure *et al.*, 2003b) où chaque paramètre est représenté par un segment qui peut être comparé par rapport à la situation de référence (cercle = 100 %) (Fig. 6.1.)

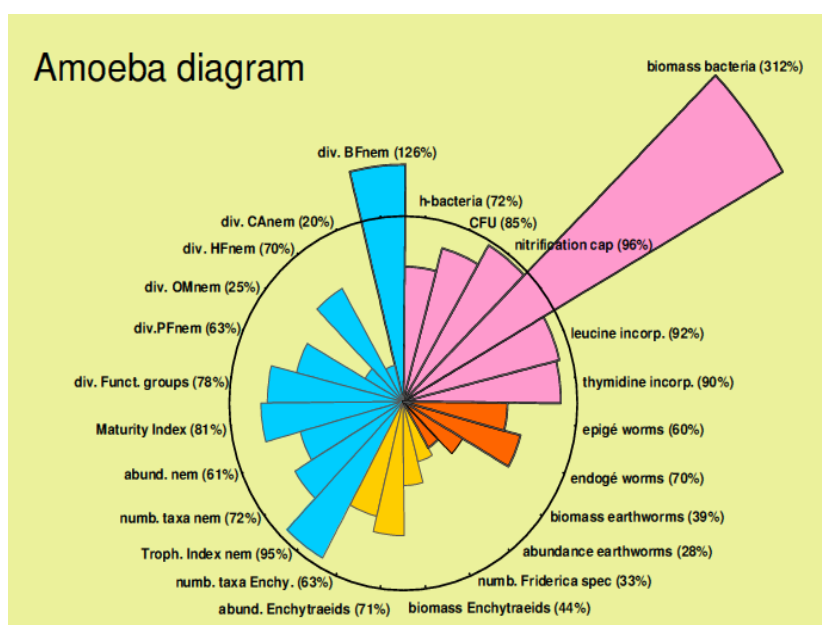


Figure 6.1. Exemple de représentation des résultats relatifs aux paramètres biologiques (Source : Breure *et al.*, 2003b).

Légende : Les indicateurs biologiques concernent :

- (1) bactéries (segments en rose) : Bacteria Thymidine incorp. (pmol/g/h); Leucine incorp. (pmol/g/h); Bacterial biomass ($\mu\text{g C/g}$); CFU (10^7 CFU/g); H-bacteria & Potential nitrification ($\text{mg NO}_3^- \text{N /kg/week}$)

¹¹ La décomposition de la matière organique, le cycle des nutriments, la disponibilité des nutriments pour plantes (interface sol/plantes vasculaires) ; la formation de la structure des sols ; la stabilité de l'écosystème sol.

¹² Le sol en tant que facteur de production, le sol en tant que système robuste, résistant et flexible (résistance résilience et adaptabilité), le sol en tant que réacteur et milieu tampon, le sol en tant qu'habitat de la vie sur terre (biodiversité du sol).

- (2) nématodes (segments en bleu) : Trophic diversity index, Number of taxa; Nematodes Abundance (num./100 g); Maturity Index; Num. functional groups; Num. spec. bacterial feeding; Num. spec. carnivores; Num. spec. hyphal feeding; Num. spec. omnivores; Num. spec. plant feeding;
- (3) enchytréides (segments en jaune) : Number of taxa; Abundance (num/m²); Biomass (g/m²); Number of Friderica (/m²)
- (4) vers de terre (segments en orange) : Abundance (num./m²); Biomass (g/m²); Endogé-species; Epigé-species.

Il est à noter que d'autres voies, éventuellement complémentaires, à la fois pour l'interprétation des mesures dans les échelles générales de qualité allant de « bonne » à « mauvaise » et pour l'agrégation des mesures individuelles consistent dans le recours à des indicateurs composites. A ce titre il y a lieu de citer :

- L'indice QBS développé en Italie (Parisi *et al.*, 2005) : la méthode propose un « indice intégré de qualité biologique du sol » (score de 1 à 20) fondé sur l'évaluation des différentes formes biologiques des microarthropodes du sol. L'indice est distingué entre un premier index (QBS-ar) fondé sur la distinction des différents groupes de microarthropodes présents dans un échantillon et un deuxième indice – désigné « QBS-c » – basé sur les formes écomorphologiques des collembolés (cf. rapport d'état des lieux, section 2.6.1.).
- L'indicateur biologique de qualité des sols, IBQS (Lavelle *et al.*, 2006 ; Ruiz-Camacho *et al.*, 2009) : cet indicateur composite est basé, sur un mode comparable à l'indice de la qualité biologique des eaux déjà utilisé en routine pour le suivi de la qualité des eaux de surface, sur l'étude des populations de macro-invertébrés. La valeur de l'indice (score de 1 à 20) est calculée en combinant l'abondance moyenne des taxons indicateurs présents dans les échantillons (Di) et leur valeur indicatrice (Si). La méthode est envisagée comme outil de mesure pour le suivi de l'état du sol au sein du réseau de surveillance français RMQS. (cf. rapport d'état des lieux, section 2.2.3.).
- L'indicateur général de la qualité des sols, IGSQ (Velasquez, 2007) : cet indicateur composite (score de 0 à 1) combine cinq sous-indicateurs qui décrivent respectivement les conditions physiques, chimiques, morphologiques, énergétiques (matière organique) et la macrofaune du sol (16 ordres de la macrofaune du sol) (cf. rapport d'état des lieux, section 2.2.3.).

D'une manière générale, la voie des indicateurs composites est reconnue comme une voie prometteuse mais qui nécessite encore des développements et tests pour atteindre le stade d'une application en routine (Turbé *et al.*, 2010).

6.3.3.3. Méthodes

Il est couramment rapporté que l'absence de coordination entre les différentes initiatives nationales et régionales en matière de suivi des paramètres biologiques du sol et de la biodiversité des sols a pu conduire à une profusion de propositions d'indicateurs et de méthodes spécifiques qui jusqu'à un certain point constituent un frein pour l'intercomparaison des données à l'échelle internationale. Bien qu'il existe des séries d'indicateurs déjà largement reconnus et utilisés – ainsi que l'atteste le tableau 1 – il est reconnu que les efforts sont à poursuivre pour la standardisation des méthodes, y compris au niveau des procédures d'échantillonnage. Dans cette perspective, en ce qui concerne spécifiquement les paramètres relatifs à la biodiversité, il est à noter que des progrès substantiels ont pu être effectués ces dernières années avec la standardisation ISO de 5 méthodes couvrant les principales classes d'invertébrés par le groupe de travail technique TC 190 consacré à la qualité des sols.

6.3.4. Principes communs pour le développement de réseaux de mesures intégrant des paramètres biologiques

Recoupant l'ensemble des initiatives développées dans les différents pays, Il se dégage un tronc commun dans la logique des étapes suivies pour le développement de réseaux de mesures intégrant des paramètres biologiques. Globalement les étapes se succèdent comme suit¹³ (Fig. 6.2.) :

Il ressort de la revue de l'existant que la procédure de sélection à réaliser pour proposer un jeu d'indicateur à tester (étapes 3 ci-dessus) revêt un enjeu important. La procédure gagne à être sous-tendue par une approche méthodologique procédant par itération et participation des acteurs – à l'instar de la procédure de « *logical sieve* » adoptée au Royaume-Uni (U.K.) (cf. rapport d'état des lieux, section 3.4.1.2.) ou à l'instar de la procédure mise en œuvre aux Pays-Bas pour la définition des indicateurs pertinents pour évaluer les performances des services écosystémiques (cf. rapport d'état des lieux, section 3.1.1.5.) – et visant d'une façon

¹³ A noter que le processus peut aussi évoluer selon un mode itératif.

générale à combiner les intérêts des utilisateurs finals (soit les questions spécifiquement posées par les parties prenantes) avec l'opinion des experts.

D'une façon générale, il apparaît également d'après la revue effectuée que la réalisation des étapes successives décrites ci-dessus constitue un processus lent. Se référant à l'expérience suisse par exemple, on peut considérer que la démarche générale a pu s'étaler sur 10 à 15 années avant d'atteindre le stade de réseau fonctionnel. Parmi les étapes a priori les plus exigeantes en temps de réalisation, figure l'étape de test et d'acquisition de données de référence pour l'interprétation des données.

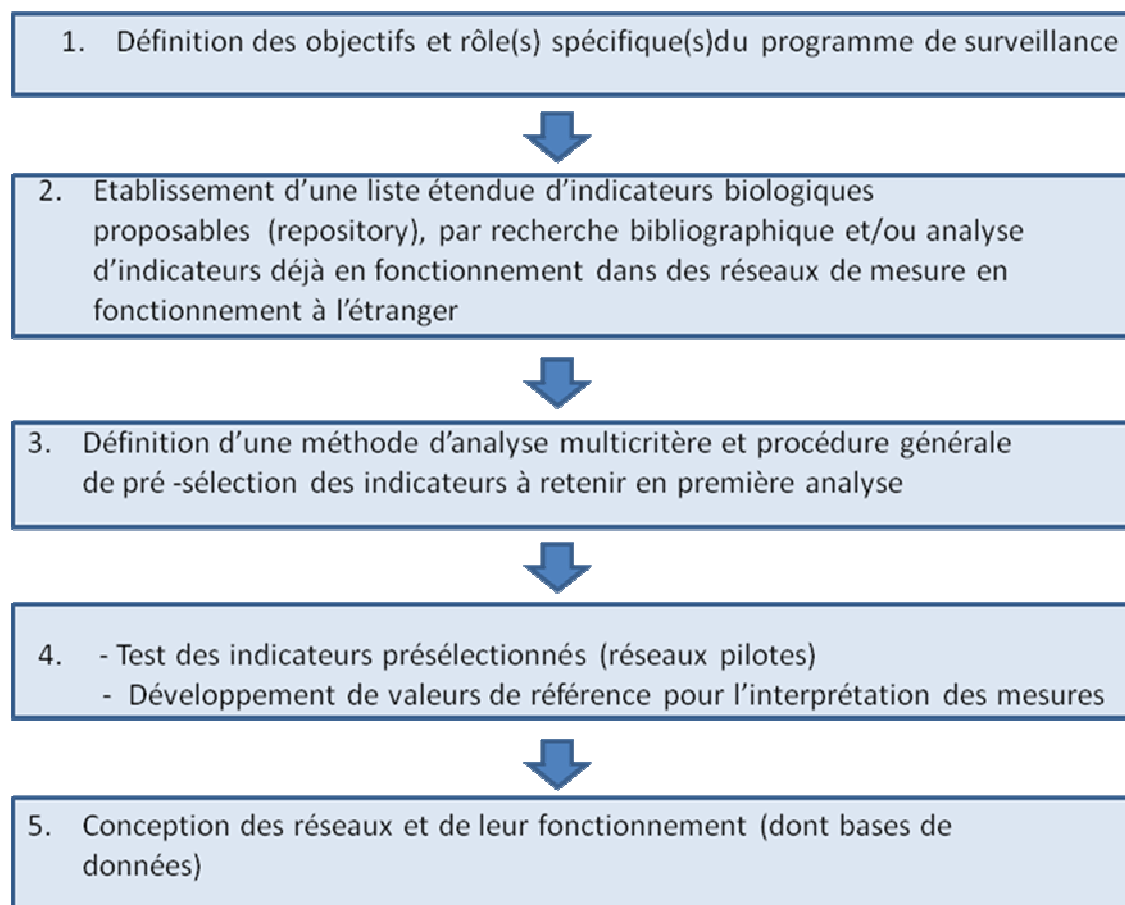


Figure 6.2. Etapes générales suivies dans différents pays européens pour la mise en place d'un réseau national de surveillance de la qualité biologique des sols et/ou de la biodiversité des sols

6.3.5. Les perspectives tracées à l'échelle de l'U.E.

A l'échelle de l'Europe la Commission Européenne a reconnu – dans sa communication « Towards a Thematic Strategy for Soil Protection, COM(2002) 179 final (Commission Européenne, 2002) » – le déclin de la biodiversité des sols au titre des principales menaces actuellement exercées sur les sols en Europe. Toutefois, le texte du projet de directive cadre publié en 2006 (COM(2006) 232 final) n'a finalement pas inclus de dispositions spécifiques au sujet de la protection de la qualité biologique des sols et de la lutte contre la perte de biodiversité des sols ; le thème étant plutôt abordé de façon indirecte, via la limitation des processus généraux de dégradation du sol (pollution, étanchéification, compaction, pertes en matière organique, etc.).

Ces toutes dernières années cependant, plusieurs groupes d'intérêt, dont notamment le Groupe d'experts sur la biodiversité des sols mis en place en 2008 au niveau du JRC, se sont attachés à remettre en évidence tous les enjeux et intérêts d'une approche spécifique sur la biodiversité des sols, incluant : des efforts de sensibilisation à propos des risques associés à la perte de biodiversité des sols, des développements de recherche - notamment en matière d'indicateurs et méthodologies de surveillance à long terme-, et l'introduction d'une

obligation de surveiller les évolutions de la biodiversité des sols au fil du temps à l'aide d'un set minimum d'indicateurs¹⁴ (Turbé *et al.*, 2010).

S'agissant des perspectives pour le déploiement de réseaux de surveillance de la qualité biologique des sols et en matière de biodiversité des sols, deux grands travaux de synthèse et d'intégration des visions des différents experts européens ont pu être réalisés ces dernières années : ceux du groupe thématique de travail TWG4 établi dans le contexte de la stratégie thématique de la Commission Européenne pour la protection des sols (Van Camp *et al.*, 2004) et ceux du projet d'action concertée ENVASSO développé dans le contexte du 6ème programme cadre de recherche et de développement de l'U.E.

6.3.5.1 .Travaux du Groupe de Travail « biodiversité du sol» mis en place dans le cadre des travaux préparatoires au projet de directive cadre sur la protection des sols

Il ressort des travaux du TWG4 (Van Camp *et al.*, 2004) :

- un inventaire descriptif détaillé des principales méthodes potentiellement utilisables dans le cadre des réseaux de surveillance, avec leurs portées spécifiques, avantages et inconvénients respectifs ;
- une analyse d'ensemble des contraintes techniques et méthodologies envisageables pour le développement de réseaux de surveillance coordonnés à l'échelle européenne, aboutissant au final sur une série de recommandations.

Ces dernières font état de la nécessité de suivre à la fois : l'abondance, la diversité, et les activités des organismes et des fonctions résultantes dans les limites de l'écosystème (prenant en considération les caractéristiques biophysiques et socio-économiques ainsi que l'activité humaine). Sept critères généraux de sélection des paramètres/indicateurs à suivre sont définis (e.a. la facilité et robustesse des mesures, et le rapport coût-bénéfice des informations obtenues). Il est suggéré que la conception des systèmes de surveillance combine (1) des mesures générales du capital écologique effectuées selon un maillage systématique (sites de niveau 1) avec (2) des combinaisons de mesures plus spécifiques qui seraient réalisées en fonction des combinaisons des types de sol et des usages, de même qu'en fonction des informations spécifiques qui pourraient être éventuellement être souhaitées (sites de niveau 2).

Pour les sites de niveau 1, le jeu minimal de bioindicateurs proposé comprend les mesures suivantes :

- biomasse microbienne du sol ;
- respiration basale.

Ces deux paramètres sont justifiés par leur large acceptation, leur succès dans les réseaux de mesure de la qualité des sols existants, leur méthodologie standardisée, et par le fait qu'ils satisfont aux critères techniques généraux de qualité énoncés. Un autre avantage consiste dans les informations additionnelles qui peuvent être acquises à propos de la capacité métabolique des communautés microbiennes au travers des paramètres/mesures liés :

- le quotient métabolique (qCO_2 , qui correspond au rapport entre la respiration basale et la biomasse microbienne) ;
- le quotient microbien (rapport entre le carbone de la biomasse microbienne et le carbone organique total).

Pour ces paramètres, le rapport épingle la nécessité de disposer d'échelles de références (valeurs optimum et valeurs minimum) et plaide pour l'établissement de ces systèmes de référence à l'échelle européenne pour différents types de sol, types d'usage et situations climatiques.

Le rapport fait également état de la nécessité de compléter ces paramètres par des outils à même d'apprécier la biodiversité des micro-organismes du sol (recours à des Unités Taxonomiques Opérationnelles (OTUs) comme dans les techniques : FAME, Biolog, et ADN).

De même pour les sites de niveau 1, le rapport recommande le recours à l'un ou l'autre indicateur relatif à la faune du sol (à noter que des justifications de ces choix sont fournies dans le rapport). Parmi ceux-ci, les deux groupes d'organismes proposés sont :

- les nématodes ;
- les vers de terre.

¹⁴ Cette obligation étant envisageable soit au travers de la directive « Habitats » soit au travers d'une directive cadre sur les sols (Turbé *et al.*, 2010).

6.3.5.2. Projet européen ENVASSO

Le projet ENVASSO¹⁵ a été réalisé au départ d'un consortium réunissant des praticiens et experts universitaires de l'UE qui se sont attachés à :

- passer en revue et analyser les indicateurs de qualité des sols et les critères d'utilisation actuellement disponibles et sur base desquels des propositions peuvent être faites dans l'optique d'un système de surveillance établi à l'échelle de l'Europe ;
- passer en revue et analyser les inventaires et programmes de monitoring existant dans les Etats Membres ;
- examiner la question des procédures et protocoles applicables dans la perspective d'un réseau européen de surveillance et de les tester ;
- concevoir un système de surveillance des sols à l'échelle européenne basé sur une liste de sites géo-référencés sur lesquels des procédures d'échantillonnages et analyses qualifiées pourraient être appliquées.

Dans le cadre spécifique de la problématique « perte de la biodiversité »¹⁶, plus de 90 indicateurs possibles ont été identifiés d'après une recherche bibliographique et regroupés en considérant deux problématiques-clés : la diversité des espèces et les fonctions biologiques (Fig. 6.3.).

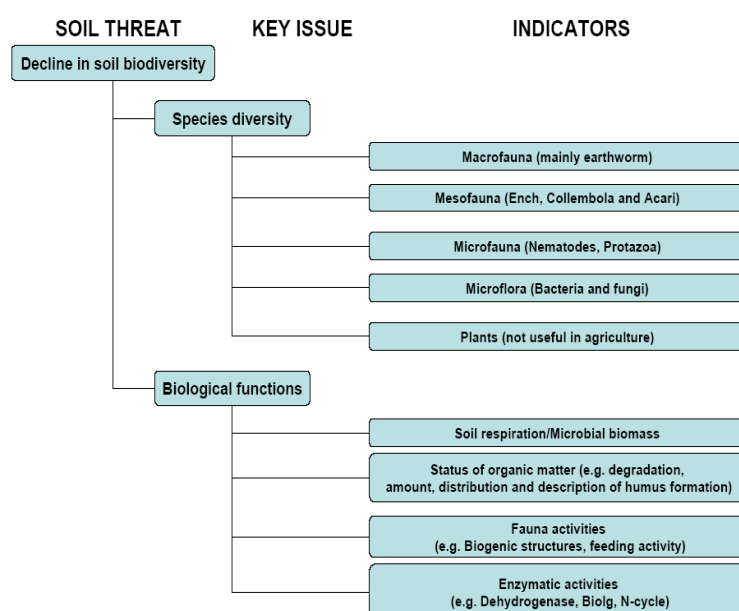


Figure 6.3. Problématiques-clé et indicateurs pour la perte de biodiversité (Source : Figure 8.1 reprise de Huber *et al.*, 2008)

La sélection des indicateurs recommandés (Tableau 3) s'est basée sur un travail de priorisation des indicateurs proposables a priori, lesquels ont été réunis dans un inventaire au départ d'une revue bibliographique effectuée par les différents participants du groupe de travail. La priorisation s'est effectuée sur base d'un ensemble de critères dont ceux avancés comme les plus importants/pertinents sont :

- la signification/pertinence de l'indicateur ;
- l'acceptation de la méthodologie (les indicateurs quantifiés à l'aide de méthodes standardisées étant favorisés) ;
- la mesurabilité et le coût (les indicateurs étant rapidement quantifiés par des méthodes peu onéreuses étant favorisés) ;
- l'interprétation à un niveau scientifique et politique.

¹⁵ Le rapport final du projet est constitué de 6 volumes disponibles sur le [Portail Européen des Sols du JRC](#)

¹⁶ Définie dans le projet ENVASSO comme la réduction des formes de vie dans le sol (en termes de quantité et de variété) et des fonctions associées.

Les indicateurs sélectionnés intègrent une diversité des espèces et des fonctions et incluent des organismes de taille différente (macro-faune, méso-faune et micro-flore), remplissant des fonctions différentes dans les sols, colonisant différents habitats et présentant des habitudes alimentaires distinctes (Tableau 6.2.).

Les indicateurs sont en outre distingués selon trois niveaux (I, II et III). Selon la disponibilité des données et l'existence de problématiques spécifiques dans une région/un pays, le set minimal comprenant (1) l'abondance, la biomasse et la diversité des vers de terre (BI01), (2) l'abondance et la diversité des collemboles (BI02), (3) la respiration microbienne (BI03) peut être élargi.

Les indicateurs proposés sont quantifiables via des protocoles standard ¹⁷ et adaptés pour une évaluation à l'échelle européenne (Gardi *et al.*, 2009).

Problématique-clé	Groupes d'espèces	Niveau I (tous les points du futur réseau européen de surveillance du sol, méthodes basées sur des normes ISO)	Niveau II (tous les points ou une sélection en fonction de problématiques spécifiques et disponibilité des ressources)	Niveau III (option)
Diversité des espèces	Macro-faune	diversité et biomasse des vers de terre (BI01)	diversité de l'ensemble de la macro-faune (au niveau de la famille) (BI01-1)	
	Méso-faune	diversité des collemboles et des enchytréides (en l'absence de vers de terre) (BI02)	diversité des acariens (niveau sous-ordre) (BI02-1)	mesure de l'activité (litter-bags)
	Micro-faune		diversité des nématodes basée sur les groupes trophiques (fongivore, bactérivore, phytophage) (BI02-2)	protistes
	Micro-flore		diversité des bactéries et des champignons (extraction DNA/PLFA) (BI00)	
	Plantes			Pour zones herbacées et pâtures
Fonctions biologiques	Macro-faune			Activité de la macrofaune (structures biogéniques ou l'activité d'alimentation)
	Méso-faune			Activité de la mésofaune
	Micro-flore	respiration microbienne (BI03)	Activité bactérienne et fongique (BI03-1)	

Tableau 6.2. Indicateurs par niveau de priorité recommandés à l'issue du projet ENVASSO pour l'évaluation perte de la biodiversité des sols.

Dans le cadre du projet ENVASSO des recommandations sont formulées en vue de l'interprétation et la comparaison des résultats, notamment en recourant à des valeurs de références (nommées *baseline values*) et des valeurs seuils (nommées *threshold values*). Dans le projet, la valeur de référence est définie comme la valeur caractéristique de l'indicateur - telle que la valeur de fond – qui servira de « base » pour l'interprétation de toutes les autres valeurs. Quant à la valeur seuil, elle est définie comme la valeur à partir de laquelle le sol atteint un état critique, causant une détérioration ou une perte d'une ou de plusieurs fonctions du sol. Il est

¹⁷ L'ensemble des protocoles est disponible dans le Volume V (p 83-101) et téléchargeable à l'adresse http://eu-soils.jrc.ec.europa.eu/projects/envasso/documents/ENV_Vol-V_Final2_web.pdf.

suggéré que le dépassement de la valeur seuil initie une action afin de limiter les impacts défavorables sur l'environnement ou sur la santé humaine (basée sur EEA, 2005 ; ENVASSO- volume VI).

En raison de la diversité des types de sol et de la variabilité des conditions environnementales et des types d'usage à travers l'Europe, il est admis que des valeurs de référence et des valeurs seuils distinctes puissent être définies par les Etats Membres (ou au sein d'un Etat Membre, qu'une distinction soit faite par région) à conditions que les protocoles à partir desquels ces valeurs sont définies soient standardisés. Par ailleurs, il est recommandé pour l'interprétation des valeurs que la mesure des indicateurs s'accompagne de la mesure des principales caractéristiques abiotiques du sol :

- caractéristiques de l'habitat : classification géographique, type d'utilisation du sol, données climatiques, profondeur de la nappe ;
- propriétés majeures du sol : pH, matière organique (%), teneur en azote total, rapport C/N, texture, C.E.C. (capacité d'échange cationique), volume de terre potentiellement exploitable par les racines ;
- pollution du sol et autres formes de stress anthropogènes : concentrations en métaux lourds et autres processus de dégradation.

Le set minimal d'indicateurs est d'ores et déjà en cours de test sur plusieurs sites pilotes en France, en Hongrie, en Irlande, en Allemagne et au Portugal afin d'évaluer la facilité avec laquelle l'indicateur est mesuré et son efficacité à indiquer une « perte de la biodiversité ». Les résultats actuels ont pu déjà démontrer l'efficacité de chaque indicateur et sa sensibilité à détecter des changements pour différents types d'usage à l'échelle européenne (Gardi *et al.*, 2009 ; Stephens *et al.*, 2008)¹⁸. Les essais pilotes n'ont cependant pas permis jusqu'à présent d'établir de valeurs de références ou de valeurs seuils.

7. Synthèse bibliographique des études récentes sur la qualité biologique des sols

L'objectif de ce chapitre était d'évaluer la pertinence de certaines mesures biologiques (diversité, activité ou biomasse des organismes du sol) comme outils d'évaluation de la qualité des sols.

7.1. Méthodologie

Nous avons consulté deux bases de données ISIWeb of Knowledge (<http://apps.isiknowledge.com>) et ScienceDirect (<http://www.sciencedirect.com>). La première couvre environ 8.700 périodiques de qualité dans les domaines des sciences, techniques, sciences sociales et sciences humaines. La seconde couvre plus de 2500 périodiques et plus de 11000 livres dans les domaines des sciences physiques, des sciences de la vie et de la santé, des sciences sociales et humaines.

Nous avons introduit l'équation suivante dans les 2 moteurs de recherche :

((“soil quality” or “soil health” or “ecosystem health” or “ecosystem quality”) and (“biotic indicator” or “biological indicator” or “microbiological indicator” or “biological index”) and (“agri-environment” or agricultural or field or “sustainable forestry” or forest or pasture or grassland or “polluted soils” or contaminated)).

Dans la base de données ISIWeb of Knowledge, nous avons obtenu 1177 résultats dont 305 références pertinentes (26%). Les autres références traitaient des milieux aquatiques (rivières, sédiments), de la santé des forêts (processus de défoliation, par exemple), de la germination des semences. De plus, certains articles apparaissaient plusieurs fois. Dans la base de données ScienceDirect, nous avons obtenu 303 articles dont 98 pertinents (32%). Les autres articles abordaient la thématique de la qualité des milieux aquatiques, des problèmes de santé des arbres, ... Quatorze des articles pertinents sont communs avec des articles référencés dans ISIWeb of Knowledge.

Nous avons consulté les articles pertinents afin de sélectionner les indicateurs biologiques de la qualité biologique de sols les plus employés/étudiés dans les milieux scientifiques. Le tableau (Tableau 7.1.) reprend le type d'indicateurs employés et le nombre de références dans lesquelles l'indicateur est employé.

¹⁸ Un descriptif est fourni pour chaque site pilote. Les indicateurs testés sont spécifiés et les résultats sont discutés et représentés graphiquement. L'information est téléchargeable à l'adresse : http://eusoils.jrc.ec.europa.eu/projects/envasso/documents/ENV_Vol-IVb_Final2_web.pdf

Indicateurs relevés dans la bibliographie	Nombre de publications où l'indicateur a été utilisé
biomasse microbienne	138
activités enzymatiques	112
respiration du sol	81
macrofaune	69
microfaune	43
diversité bactérienne	41
mésafaune	39
minéralisation de l'azote	33
quotient métabolique (qCO ₂)	33
diversité fonctionnelle, potentiel métabolique (biolog)	28
plantes- fougères	28
comptage bactérien, taux croissance	24
mycorhizes	19
comptage des champignons	14
quotient microbien (qmic)	10
nitrification	9
microflore	7
dénitrification	6
ATP	5
ammonification	4
fixation de l'azote	4
ammonification arginine	3
concentration en ergostérol	3
décomposition de la litière	2
activité microbienne et fongique	1
near infrared spectroscopy	1
pathogènes racines	1
potentiel de mortalité racinaire	1
total dna	1
émission de méthane	1

Tableau 7.1. Relevé des indicateurs biologiques dans les articles obtenus dans les bases de données ISIWeb of Knowledge et Science Direct.

Il apparaît que les indicateurs biologiques les plus souvent employés dans la littérature citée dans ces bases de données sont la biomasse microbienne, l'activité enzymatique, la respiration du sol, les organismes de la macro-, méso- et microfaune, la diversité microbienne ainsi que la minéralisation de l'azote. On constate que les indicateurs les plus usités sont des organismes eux-mêmes (macrofaune), leur abondance (biomasse microbienne), leur diversité (diversité microbienne), ou des processus régulés par ces organismes (minéralisation de l'azote, activités enzymatiques).

7.2. Relevés des indicateurs biologiques employés dans la littérature, méthodologies et sensibilités de ces indicateurs.

Lors de la consultation des articles pertinents, nous nous sommes focalisés sur les méthodes utilisées dans la littérature pour étudier les indicateurs biologiques et sur la sensibilité de ces indicateurs aux perturbations liées aux activités anthropiques. La sensibilité vis-à-vis d'une perturbation environnementale (pratiques de gestion, pollution) est dite élevée si, la majorité des articles révèlent une modification de l'indicateur suite à cette perturbation. Elle est dite moyenne si l'indicateur est sensible à certaines perturbations mais pas à d'autres (par exemple sensibilité à la fertilisation mais pas au labourage). La sensibilité est dite faible si pas ou peu de modifications de l'indicateur sont observées suite à une perturbation.

7.2.1. Les micro-organismes du sol

Les indicateurs biologiques de la qualité du sol peuvent être classés en trois catégories selon le type d'informations qu'ils fournissent. En effet, ils reflètent soit (i) la **biomasse**, (ii) l'**activité** ou (iii) la **diversité** des micro-organismes.

7.2.1.1. La biomasse microbienne

La biomasse microbienne est la composante vivante de la matière organique du sol à l'exclusion des racines et de la macrofaune (Sparling, 1997). Elle joue un rôle dans les services écosystémiques de support (décomposition de la matière organique, transformation des éléments nutritifs, solubilisation des minéraux, structure du sol) et de régulation (dégradation de résidus toxiques, antagonistes vis à vis des organismes pathogènes).

La biomasse microbienne représentant 1 à 5% du carbone total du sol peut être employée comme indicateur de changement dans les processus du sol car elle présente un turnover plus rapide (0.2-6 ans) que la matière organique total du sol (>20ans) (Jenkinson et Ladd, 1981).

Diverses méthodes existent pour estimer la biomasse microbienne. Elle peut être déterminée par le comptage cellulaire (microscopie), la fumigation-extraction au chloroforme (CFE), la fumigation-incubation au chloroforme (CFI), la respiration induite (SIR- substrate induced respiration), le dosage de marqueurs moléculaires tels l'adénosine tri-phosphate (ATP), les composants cellulaires membranaires (PLFA-phospholipid fatty acid), les acides nucléiques.

Le **comptage direct des micro-organismes** du sol peut être réalisé en estimant le nombre de cellules microbiennes par observations microscopiques après coloration (différents colorants : DAPI (4',6-diamino-2-phenylindole-dihydrochloride), acridine orange,...). La biomasse microbienne est calculée en multipliant le produit (nombre de bactéries * volume moyen cellulaire) par un facteur de conversion. Le facteur de conversion est de $1.3 \cdot 10^{-13}$ g C/ μm^3 pour la biomasse fongique et de $3.1 \cdot 10^{-13}$ g C/ μm^3 pour la biomasse microbienne. Le comptage cellulaire présente certaines restrictions : difficulté de discrimination entre les cellules actives et inactives, nombreuses étapes entre l'échantillonnage et le comptage cellulaire (préparation de la suspension cellulaire, coloration, fixation, préparation avant observation) induisant de multiples erreurs spécifiques, ainsi que la subjectivité de la méthode. En effet, l'opérateur doit distinguer les cellules microbiennes des particules et débris cellulaires. Le comptage cellulaire après culture pose problème car seulement 0.1-10% des populations bactériennes peuvent être cultivées (Ovreas et Torsvik, 1998). En raison des biais, des difficultés techniques et du temps nécessaire à la préparation et à l'observation des échantillons, cette technique est rarement utilisée comme le confirme notre relevé de littérature.

La biomasse microbienne peut être déterminée par **fumigation au chloroforme**. La fumigation induit la lyse cellulaire et libération de composants (dont le carbone et l'azote) dans le milieu. Deux méthodes existent : la **fumigation-incubation** (CFI) et la **fumigation-extraction** (CFE). Lors de la **CFI**, l'évolution du CO₂ émis par des sols fumigés et non fumigés est suivie pendant 10 jours d'incubation, après réinoculation des sols avec une suspension de sol d'origine (inoculum). La différence d'émission de CO₂ entre les échantillon fumigés et non fumigés résulte de la décomposition de composants libérés par la lyse cellulaire. La biomasse microbienne est estimée en divisant cette différence par un facteur de conversion représentant la proportion de biomasse microbienne minéralisée en CO₂ (Horwarth et Paul, 1994). Cette technique aboutit à une sous-estimation de la biomasse, voire à des biomasses négatives, si les échantillons non fumigés contiennent beaucoup de micro-organismes morts (sols très secs); où lorsque les sols sont amendés (les échantillons non fumigés sont plus à même d'utiliser les substrats fraîchement ajoutés). De plus, l'inoculum ne peut se développer dans les échantillons fumigés si le pH du sol est inférieur à 5. Cette technique requiert 10 jours d'incubation ainsi qu'une période de pré-incubation. En raison des contraintes techniques et du long laps de temps nécessaire pour cette analyse, la CFI n'est plus employée. Lors de la **CFE**, les vapeurs de chloroforme induisent la lyse cellulaire et le carbone est mesuré dans un extrait au K₂SO₄ du sol, avant et après fumigation. Comme cette technique ne nécessite ni pré-incubation, ni incubation, ni inoculation, elle peut être utilisée pour des sols amendés et acides (Vance *et al.*, 1987). En plus du carbone, cette technique permet de doser, l'azote microbien dans le même extrait de sol au K₂SO₄. Cette technique est avantageuse du point de vue du temps et de l'application à une large gamme de sols.

La **technique de respiration induite** (SIR) est basée sur le principe suivant : en conditions standardisées, le métabolisme du glucose (substrat) en excès est limité par la quantité de micro-organismes aérobies actifs dans

le sol. Lors des premières heures suivant l'ajout de substrat, la respiration est proportionnelle à la biomasse du sol (Höper, 2006). Cette méthode requiert un appareillage spécifique (SIR analyseur muni d'un détecteur de gaz infra-rouge) permettant de suivre l'évolution du CO₂ produit au cours du temps (chaque heure), sous ventilation continue. En effet, l'absence de ventilation induit une augmentation temporaire du CO₂ et une déplétion en O₂ dans le sol, aboutissant à une surestimation de la biomasse. Pour réduire le coût des analyses, des mesures manuelles et à très court terme (quelques heures) de SIR dans des bouteilles closes avec un septum où la production de CO₂ est analysée par chromatographie gazeuse, titration ou par spectrométrie infrarouge ont été développées. Cependant, ces mesures sont laborieuses (coûteuses en temps et moins adaptées pour analyser de nombreux échantillons). De plus, ces mesures sont limitées au sol dont le pH est inférieur à 6.5. Pour des valeurs de pH supérieures, le CO₂ peut s'accumuler sous forme de HCO₃⁻ dissout dans l'eau du sol. La majeure limitation de la SIR est qu'aucun facteur de conversion général n'existe pour exprimer les résultats de respiration induite en biomasse C. Le facteur de conversion moyen utilisé couramment (Anderson et Domsch, 1978) ne reflète pas la variabilité de production de CO₂ par unité de biomasse selon l'âge physiologique des cellules. La SIR est une technique utilisable pour estimer la biomasse nécessitant un appareillage spécifique ainsi qu'une calibration de la quantité de glucose à ajouter. De plus, les mesures doivent être répétées plusieurs fois (minimum 3 mesures) sur un même échantillon afin de diminuer la variabilité de la mesure.

Le **dosage de l'adénosine tri-phosphate (ATP)** permet d'estimer la biomasse du sol puisque l'ATP est présent dans tous les organismes vivants. De plus, l'ATP des cellules mortes et l'ATP libre ne subsistent pas longtemps dans le sol. Cette technique présente certaines limites telles l'extraction incomplète de l'ATP cellulaire, la décomposition de l'ATP lors de l'extraction et son adsorption par les constituants du sol après extraction. L'emploi d'extractants fortement acides (Jenkinson et Ladd, 1981) ou de DMSO-Na₃PO₄ (Martens, 2001) est recommandé ainsi que le couplage extraction-sonication de la suspension. Il faut noter que l'emploi d'extractants acides (chauds) est contraignant. Horwarth et Paul (1994) notent que les valeurs d'ATP obtenues sont difficilement transposables en terme de biomasse C. Les rapports biomasses/ATP varient de 171 (Tate et Jenkinson, 1982) à 500 (Sparling, 1981). De plus, il a été démontré que la croissance et le rendement énergétique, particulièrement la formation d'ATP, ne sont pas toujours couplés (Karl, 1980). D'autres auteurs (Lin et Brookes, 1996) observent une bonne corrélation entre la biomasse mesurée par CFE et celle estimée par dosage de l'ATP. Ils affirment que ces deux méthodes représentent le même pool de la matière organique du sol (la biomasse active et dormante). En raison de ces contraintes techniques et d'interprétabilité, le dosage de l'ATP est moins efficace que la CFE pour estimer la biomasse microbienne.

Le **dosage de l'ADN total du sol** est également employé pour estimer la biomasse microbienne car l'ADN est une biomolécule présente dans toutes les cellules vivantes. Cependant, l'efficacité de l'extraction d'ADN est très variable et dépend de la texture et du contenu en matière organique. De plus, le dosage de l'ADN total ne peut être utilisé pour estimer la biomasse microbienne dans les sols forestiers (Leckie *et al.*, 2004). En raison de ces limitations, l'estimation de la biomasse microbienne par dosage de l'ADN est peu recommandée.

La biomasse microbienne a été employée pour étudier l'impact de différentes mesures de gestion agricole (Tableau 7.2.). En effet, la biomasse est sensible aux types de fertilisation (minérale, organique) (Fernandes *et al.*, 2005 ; Guerrero *et al.*, 2007 ; Marinari *et al.*, 2007 ; Li *et al.*, 2008 ; Bhogal *et al.*, 2009 ; Lagomarsino *et al.*, 2009 ; Liu *et al.*, 2009), ainsi qu'à la dose de fertilisation (Hernandez *et al.*, 2007), à la rotation de culture (fréquence, type, Jordan *et al.*, 2004 ; Nelson *et al.*, 2009), au labour (Jordan *et al.*, 2004 ; Lupwayi *et al.*, 2007 ; Madejon *et al.*, 2009 ; Gonzalez-Chávez *et al.*, 2010), à la plantation de couvertures compagnes (plantation de légumineuses ou de blé d'hiver, Jokela *et al.*, 2009) ainsi qu'à l'occupation (prairie, prairie restaurée, culture) des sols (Saggar *et al.*, 2001 ; Knigh et Dick, 2004 ; Biederbeck *et al.*, 2005). Elle permet d'étudier l'impact de pollution aux métaux lourds ou éléments trace métalliques (Cd, Zn, Epelde *et al.*, 2010 ; Li *et al.*, 2009) et en hydrocarbures (Serrano *et al.*, 2008) en zone agricole et de suivre l'évolution des sols suite à diverses méthodes de remédiation (Dawson *et al.*, 2007). La biomasse microbienne est également sensible aux méthodes de gestion forestière. Elle est sensible à la fertilisation (Kara, 2009), à l'occupation du sol (lande, semis, forêt primaire, secondaire) (Chapman *et al.*, 2003 ; Nogueira *et al.*, 2006 ; Reyes-Reyes *et al.*, 2007), à la compaction (Mariani *et al.*, 2006) ainsi qu'à l'âge des plantations (Chaer *et al.*, 2009). La biomasse microbienne rend compte de l'âge et du type de plantations (Gartzia-Bengoetxea *et al.*, 2009 ; Olszowska, 2009) ainsi que de la pollution aux métaux lourds (Cu, Chaer *et al.*, 2009) en zone forestière. La biomasse microbienne ne rend pas compte de l'érosion des sols (Moreno-de-las-Heras, 2009), ni du type de culture (Lagomarsino *et al.*, 2009).

Indicateur biologique : biomasse microbienne				
Milieu	méthodes	sensibilité vis-à-vis de la gestion des sols	sensibilité vis-à-vis de l'âge/type de plante	sensibilité vis-à-vis de la pollution
agricole	CFE	élevée	moyenne	élevée
agricole	SIR	élevée	nd	nd
forestier	CFE	élevée	élevée	élevée
urbain	-	-	-	-

Tableau 7.2. Relevé des méthodes utilisées pour l'estimation de la biomasse microbienne en milieux agricoles, forestier et urbain et sensibilité vis-à-vis de pratiques de gestion (fertilisation, labour, occupation des sols, de l'âge/type des plantes, de diverses pollutions (métaux lourds, hydrocarbures , ...)

Il faut remarquer qu'une biomasse microbienne importante n'est pas synonyme de fertilité. Par exemple, une biomasse plus importante mais moins active peut être observée dans un champs de blé ne recevant aucun fertilisant comparé à un champ de blé fertilisé (Biederbeck *et al.*, 1984). L'application de fertilisants à long terme aboutit à des conditions plus acides pouvant induire une diminution de la biomasse microbienne bien que la productivité primaire soit maintenue (Ladd *et al.*, 1994).

La biomasse microbienne a été recommandée dans différent programme de suivi des sols (Allemagne, Suisse, Angleterre et Tchèque).

7.2.1.2. Activités microbiennes du sol

Au travers de leurs activités, les micro-organismes du sol jouent un rôle dans les services écosystémiques de support et de régulation. En effet, les activités microbiennes du sol, cruciales pour les cycles biogéochimiques, régulent la disponibilité des nutriments pour les plantes (service de support). Ils influencent également la structure et la stabilité du sol (service de support), ils dégradent les polluants et les substances xénobiotiques (service de régulation). Les activités microbiennes sont régulées par des facteurs environnementaux tels les conditions nutritionnelles, l'humidité, la température, le pH ou la disponibilité en oxygène.

Pour estimer l'activité microbienne du sol, deux approches existent : l'approche *in situ* et l'approche en laboratoire. Les études *in situ*, intégrant les paramètres intrinsèques du site et tenant compte des interactions avec les plantes et animaux, reflètent l'activité actuelle des micro-organismes (conditions non optimales). Cependant, *in situ*, les résultats peuvent être affectés par les variations des conditions du sol. Les approches en laboratoire sont réalisées en conditions standardisées (température, humidité, pH), ce qui permet de comparer des sols issus de différents sites d'études. Les études en laboratoire reflètent l'activité potentielle des micro-organismes c'est-à-dire leurs capacités métaboliques en conditions de nutrition, d'humidité, de pH et de température optimales.

Les approches en laboratoire sont privilégiées lorsqu'un grand nombre d'échantillons doit être étudié. En effet, ces approches sont faciles à planifier, à réaliser en routine et elles permettent de comparer les résultats.

7.2.1.2.1. Activités microbiennes liées au cycle du carbone

Diverses méthodes existent pour estimer les activités microbiennes liées au cycle du carbone telles la respiration du sol, les activités enzymatiques ou l'émission de méthane.

La respiration du sol

La respiration du sol reflète l'activité des micro-organismes, c'est-à-dire leur capacité à minéraliser les substances organiques. C'est pourquoi la respiration du sol est aussi appelée minéralisation du carbone.

Par définition, la respiration est un processus physiologique au cours duquel les molécules organiques sont catabolisées. Ce processus libère de l'énergie, de l'eau et du CO₂. La respiration du sol est, au sens strict, la production de CO₂ par les organismes du sol ainsi que par les parties souterraines des plantes. La libération de CO₂ est majoritairement imputable aux micro-organismes (90%) et à la faune du sol (10%) (Paustian *et al.*,

1990). *In situ*, la respiration racinaire représente 12 à 30% de la respiration du sol (Steen, 1990). Dans le sol, le CO₂ peut également être formé par des processus anaérobie (fermentation) ou abiotique (dissolution des carbonates dans la solution du sol) mais c'est un constituant mineur. La respiration du sol peut être employée comme indicateur de la qualité du sol car elle fournit des informations sur le turnover du carbone. Elle est d'ailleurs utilisée dans différents programmes de suivi des sols (Allemagne, Angleterre, Suisse, Suède).

Deux méthodes existent pour mesurer la production de CO₂ :

- la méthode statique où le CO₂ produit est collecté dans un système clos contenant le sol (étude en laboratoire) ou dans une chambre d'incubation recouvrant une partie de la surface du sol (étude *in situ*). Ces méthodes ne conviennent que pour des observations à court terme car le CO₂ s'accumule dans les systèmes clos.
- La méthode dynamique, où un flux d'air (dépourvu de gaz carbonique) circule dans le système d'incubation et la composition du gaz est analysée à la sortie.

Indicateur biologique : respiration du sol				
Milieu	méthodes	sensibilité vis-à-vis de la gestion des sols	sensibilité vis-à-vis de l'âge/type de plante	sensibilité vis-à-vis de la pollution
agricole	Respiration basale (BR)	élevée	faible	élevée
agricole	Respiration induite (SIR)	élevée	nd	moyenne
forêt	BR	élevée	élevée	nd
forêt	SIR	élevée	élevée	nd
forêt	In situ	faible	nd	nd

Tableau 7.3. Relevé des méthodes utilisées pour l'estimation de la respiration du sol en milieux agricole, forestier et urbain et sensibilité vis-à-vis de pratiques de gestion (fertilisation, labour, occupation des sols, de l'âge/type des plantes, de diverses pollutions (métaux lourds, hydrocarbures , ...).

Une méthode statique couramment employée en laboratoire et très fréquemment utilisée dans la littérature est la **respiration basale**, où la détermination du CO₂ produit se fait par absorption par un alcali suivi d'une analyse par titration. Cette méthode repose sur le caractère acide du CO₂. Le piégeage du CO₂ est une réaction de neutralisation acido-basique qui produit du carbonate quand le CO₂ entre en contact avec l'alcali. Si on utilise du NaOH comme absorbant, la réaction est décrite par l'équation suivante : $\text{CO}_2 + 2 \text{NaOH} \leftrightarrow \text{Na}_2\text{CO}_3 + \text{H}_2\text{O}$. Tant que l'absorbant contient un large excès de OH⁻, le CO₂ est piégé. A la fin de l'incubation, les groupements OH⁻ non consommés sont titrés par un acide (HCl). La quantité de CO₂ produite dans un système clos peut également être directement analysée par chromatographie gazeuse (GC) ou par détection infrarouge. Le second système de mesure étant d'ailleurs plus rapide (1 échantillon toutes les 2 minutes alors que l'analyse d'un échantillon dure une dizaine de minute à la GC). Ces mesures, nécessitant un appareillage spécifique, sont moins rencontrées que les méthodes de titration dans la littérature.

On constate que les méthodes *in situ* sont très peu utilisées (1 seul article) pour étudier l'effet des activités anthropiques sur l'activité microbienne. En effet, afin de comparer différents sols, les mesures de respiration du sol doivent être réalisées en conditions contrôlées (Anderson, 1982). Dans la revue de littérature que nous avons réalisée, 2 approches en laboratoire sont préconisées pour estimer l'activité des micro-organismes : la respiration basale (en conditions optimales de température, d'humidité) et la respiration induite (avec ajout de glucose, §7.2.1.1). Le relevé bibliographique montre que la respiration basale est plus sensible que la respiration induite et qu'elle permet une distinction plus rapide des modifications induites par les activités anthropiques. Elle est d'ailleurs plus fréquemment utilisée dans la littérature que la respiration induite pour étudier l'activité des micro-organismes. Ces 2 méthodes confondues, il apparaît que la respiration du sol a été employée pour étudier l'impact de différentes mesures de gestion agricole (Tableau 7.3.). En effet, la

respiration du sol est sensible à fertilisation (minéral, organique) (Guerrero *et al.*, 2007; Marinari *et al.*, 2007; Bhogal *et al.*, 2009), à la rotation de culture (Biderbeck *et al.*, 2005), à l'occupation des sols (prairies, cultures, Saggari *et al.*, 2001 ; Sicardi *et al.*, 2004). Cependant, la respiration n'est sensible aux pesticides que lorsque ceux-ci sont appliqués à une dose supérieure à celle recommandée par les fabricants (Zabaloy *et al.*, 2008 ; Crouzet *et al.*, 2010) et n'est pas sensible aux types de plantes (céréales vs espèces maraîchères, Lagomarsino *et al.*, 2009) . Elle permet d'étudier l'impact de pollution aux métaux lourds ou éléments trace métalliques (Cd, Pb, Zn (Maliszewska *et al.*, 2003) ; Branzini *et al.*, 2009) ainsi que de pollution en hydrocarbures polycycliques aromatiques (Serrano *et al.*, 2008) dans des sols agricoles et de suivre l'évolution des sols suite à diverses méthodes de remédiation (Branzini *et al.*, 2009 ; Epelde *et al.*, 2009). La respiration du sol est également sensible aux méthodes de gestion forestière. Elle est sensible à la fertilisation (Samuelson *et al.*, 2009), à l'occupation du sol (forêt primaire, secondaire, Nogueira *et al.*, 2006), à l'irrigation (Samuelson *et al.*, 2009) mais pas à la compaction (Mariani *et al.*, 2006). Contrairement à ce qui est observé pour les sols agricoles, la respiration est sensible à l'âge des plantes pour les sols forestiers (Chaer *et al.*, 2009).

L'émission de méthane.

Le méthane, gaz à effet de serre, est produit par des archées anaérobies dites méthanogènes et est consommé par des bactéries aérobies dites méthanotrophes. Des sites importants pour la production de méthane sont les zones humides recevant de grandes quantités de matière organique ainsi que les décharges (Ritchie *et al.*, 1997). La production nette de méthane peut être considérée comme un indicateur d'émission de gaz à effet de serre. L'oxydation du méthane est estimée par dosage (chromatographie gazeuse) dans un échantillon de sol dans un incubateur fermé.

L'oxydation du méthane a été employée comme indicateur de la qualité de sol dans un seul article (Chapmann *et al.*, 2003) sur l'impact de l'occupation du sol (forêt, tourbière, landes). Cet indicateur est moins sensible que la respiration basale qui elle mettait en évidence des différences selon ces différentes occupations.

7.2.1.2.2. Activités microbiennes liées au cycle de l'azote

Les activités microbiennes liées au cycle de l'azote peuvent être étudiées via différents processus tels la minéralisation nette de l'azote, la nitrification ou la dénitrification. Il est également possible d'appréhender les activités microbiennes liées au cycle de l'azote en étudiant les activités enzymatiques impliquées dans le turnover de l'azote telles l'activité des uréases, des protéases, des peptidases (§7.2.1.2.3).

La minéralisation nette de l'azote

La **minéralisation** et l'**immobilisation** de l'azote sont deux processus importants du cycle de l'azote. La minéralisation de l'azote dans le sol peut être définie comme la transformation de l'azote organique en forme inorganique (ammonium, nitrites et nitrates) utilisables par les plantes (Stevenson, 1985). L'**immobilisation**, quant à elle, est la conversion de l'azote inorganique en azote organique (incorporation dans les cellules). Ces deux processus se déroulent simultanément dans le sol. On peut évaluer la minéralisation brute (quantité totale d'azote minéralisé) et la minéralisation nette (minéralisation brute moins immobilisation) de l'azote.

La minéralisation de l'azote peut être employée comme indicateur biologique car c'est une mesure intégrant les facteurs climatiques ainsi que les facteurs chimiques, physiques et biologique (fertilité) du sol. En effet, de plus grandes quantités d'azote sont minéralisées dans les sols ayant des formes d'azote organique facilement décomposables, reflétant l'accumulation d'azote organique dans ces sols en raison des conditions climatiques antérieures (température, oxygénation, ...). De plus, ce processus est en relation avec la capacité du sol à fournir l'azote nécessaire à la production primaire (services de support : dégradation de la matière organique, cycles biogéochimiques) et il reflète les risques de pollution de l'eau via le lessivage des nitrates et de l'atmosphère via la production de protoxyde d'azote (service de régulation).

Afin d'estimer la minéralisation brute de l'azote, on utilise la technique de dilution isotopique qui consiste à mesurer les changements d'abondance en N¹⁵ dans le sol. Malgré l'importance des processus conjoints de minéralisation-immobilisation de l'azote, peu d'études sont consacrées à la minéralisation brute de l'azote. Cette technique est onéreuse, assez difficile à mettre en œuvre et les équations servant à décrire le processus de façon quantitative sont mal formulées (Canali et Benedetti, 2006), ce qui limite son utilisation à des recherches fondamentales.

La minéralisation nette de l'azote peut être étudiée *in situ* ou au laboratoire. Dans les deux cas, on estime la production d'azote minéral (ammonium, nitrites, nitrates) au cours du temps. Les études *in situ* estiment la

minéralisation en l'absence d'absorption racinaire. Cette méthode consiste en l'incubation du sol (en sachet ou en container) sur site et dans le sol. Cette méthode présente l'avantage de refléter les conditions du site mais des modifications des conditions (humidité (Zeller *et al.*, 1997), oxygénation (Abril *et al.*, 2001) à l'intérieur des récipients peuvent affecter les mesures. De plus, ces méthodes nécessitent de fréquents déplacements sur le terrain et ne conviennent pas pour des analyses en routine. Les études en **laboratoire** reflètent le potentiel d'activité des micro-organismes. Ces études sont plus faciles à mettre en place, moins laborieuses et permettent la comparaison entre différents sols (Wienhold, 2007). Les conditions d'incubation peuvent refléter soit les conditions rencontrées sur site, soit les conditions optimales pour le processus. Deux méthodes de laboratoire ont été relevées dans la littérature : l'incubation à court terme en conditions (i) aérobies ou (ii) anaérobies. On mesure la quantité d'ammonium et de nitrates (aérobie) ou la quantité d'ammonium (anaérobie) produits dans une solution KCl avant et après incubation. Ainsi la production d'azote inorganique est estimée au cours du temps. Les incubations aérobies se déroulant en conditions optimales surestiment la minéralisation nette de l'azote. Les incubations en conditions anaérobies présentent certains avantages tels leur durée limitée (max. 7 jours comparés à 15 jours pour les incubations aérobies) ainsi que l'élimination des problèmes inhérents au contenu en eau. Cependant, elles se déroulent dans des conditions très éloignées de celles du site (Wienhold, 2007). Dans la littérature, la méthode la plus fréquemment employée est l'incubation à court terme (15j) ou moyen terme (21 j) en conditions aérobies.

Indicateur biologique : minéralisation nette de l'azote				
usage	méthodes	sensibilité vis-à-vis de la gestion des sols	sensibilité vis-à-vis de l'âge/type de plante	sensibilité vis-à-vis de la pollution
agricole	Incubation aérobie (moyen terme)	élevée	aucune	moyenne
agricole	Incubation anaérobie (moyen terme)	élevée	nd	nd
forêt	Incubation aérobie (moyen terme)	élevée	faible	faible
forêt	Incubation anaérobie (moyen terme)	nd	nd	nd
urbain	Incubation aérobie (moyen terme)	faible	nd	nd
urbain	Incubation anaérobie (moyen terme)	élevée	nd	élevée

Tableau 7.4. Relevé des méthodes utilisées pour l'estimation de la minéralisation nette de l'azote en milieux agricole, forestier et urbain et sensibilité vis-à-vis de pratiques de gestion (fertilisation, labour, occupation des sols, de l'âge/type des plantes, de diverses pollutions (métaux lourds, hydrocarbures, ...)).

La minéralisation nette de l'azote a été employée pour étudier l'impact de différentes mesures de gestion agricole (Tableau 7.4.). En effet, elle est sensible aux types de fertilisation (minérale, organique) (Guerrero *et al.*, 2007 ; Boghal *et al.*, 2009 ; Liu *et al.*, 2009 ; Dinesh *et al.*, 2010) et au labour (Jordan *et al.*, 2004). Elle n'est pas sensible aux types de plantes (céréales, cultures maraîchères, Lagomarsino *et al.*, 2009). Bien qu'elle permette de suivre l'évolution des sols suite à diverses méthodes de remédiation (Dawson *et al.*, 2007), elle ne rend pas compte de l'impact de pollution aux métaux lourds (Pb (Epelde *et al.*, 2008)). La minéralisation de l'azote est sensible à l'occupation du sol en zone urbaine (jardin, parc, métro, Lorenz et Kandeler, 2006), en zone agricole (Saggar *et al.*, 2001) en zone forestière (forêt primaire, secondaire, (Nogueira *et al.*, 2006)). En zone urbaine, elle est sensible à la pollution aux métaux lourds (Cd, Zn, Pb, Cu, Mn, (Li *et al.*, 2009)). La

minéralisation nette de l'azote est utilisée comme indicateur dans de nombreux programmes de suivi des sols (Autriche, Pays-Bas, France, Nouvelle Zélande et Suisse).

La nitrification

La nitrification est une étape du cycle de l'azote. C'est l'oxydation de l'ammonium en nitrites et nitrates. La nitrification peut être employée en tant qu'indicateur biologique car elle intervient dans les services écosystémiques de support (cycles biogéochimiques) et de régulation (lessivage des nitrates).

Cependant, dans la littérature, elle est très peu employée (2 articles). Contrairement à la minéralisation nette de l'azote, elle ne rend pas compte de l'occupation des sols en milieu forestier (forêt primaire, secondaire, (Nogueira *et al.* 2006)). Elle permet de suivre les effets de remédiation (Dawson *et al.*, 2007).

La nitrification peut être étudiée par incubation aérobie à court terme, comme la minéralisation de l'azote. Dans ce cas, seuls les nitrates produits sont estimés. Bien que la nitrification soit supposée être plus sensible aux perturbations environnementales que la minéralisation de l'azote, en raison du faible nombre de bactéries régulant ce processus, certaines mesures ne confortent pas cette hypothèse (Nielsen et Winding, 2002).

La dénitrification

La dénitrification est un processus anaérobie au cours duquel les nitrates sont réduits en protoxyde d'azote et en azote moléculaire par des bactéries aérobies facultatives, par certaines espèces de champignons et d'archées.

La dénitrification pourrait être un indicateur biologique des activités microbiennes liées au cycle de l'azote car elle peut affecter négativement la production primaire (perte d'azote) ainsi que la qualité de l'air. En effet, le N₂O est un puissant gaz à effet de serre. Cependant, la dénitrification est peu employée dans la littérature (1 article) comme indicateur biologique de la qualité du sol. Elle est sensible à la fertilisation (Freschet *et al.*, 2008).

Les mesures de dénitrification sont réalisées par la technique d'inhibition à l'acétylène (Smith et Tiedje, 1979). L'acétylène inhibe la réduction enzymatique du N₂O (facilement dosable par chromatographie gazeuse) en N₂ (difficilement dosable). En présence d'acétylène, la quantité de N₂O produit représente à la fois le N₂O et le N₂ produit par la dénitrification. Cette méthode permet de détecter de faible changement dans l'émission de N₂O.

7.2.1.2.3. Les activités enzymatiques

Les enzymes du sol sont des protéines qui catalysent d'innombrables réactions dans le sol. Ils remplissent un rôle dans les services écosystémiques de support (décomposition de la matière organique, transformation des éléments nutritifs, structure du sol) et de régulation (dégradation des substances xénobiotiques). Les activités enzymatiques sont des indicateurs potentiels car ils réagissent plus rapidement aux variations du milieu que la teneur en carbone du sol.

Les enzymes du sol sont majoritairement d'origine microbienne (Ladd, 1978), mais les plantes et les animaux peuvent également contribuer au pool enzymatique du sol. Les enzymes sont soit associés aux cellules vivantes et dits biotiques, soit extracellulaires et dits abiotiques. Les enzymes biotiques sont localisés (i) dans le cytoplasme de la cellule, (ii) dans l'espace périplasmique, (iii) sur la surface extérieure de la cellule. Les enzymes abiotiques comprennent, (i) les enzymes excrétés par la cellule vivante lors de sa croissance et sa division cellulaire, (ii) ceux liés aux débris cellulaires ou aux cellules mortes, (iii) ceux libérés par la lyse cellulaire mais dont la localisation fonctionnelle est interne à la cellule. Les enzymes abiotiques peuvent être en solution, absorbés par les argiles ou piégés par les colloïdes humiques (Dick, 1994 ; Gianfreda and Ruggiero, 2006). L'activité des enzymes en solution est faible en raison de leur faible durée de vie (Nannipieri et Gianfreda, 1998).

Différents enzymes interviennent dans le cycle du carbone tels les **cellulases** (hydrolysent la cellulose en glucose, cellobiose), les **xylanases** (hydrolysent le xylane (hémicellulose)), les **glucosidases** (hydrolysent les liens glucosidiques et libère du glucose), les **invertases** (hydrolysent le sucrose en glucose et fructose). L'activité enzymatique la plus fréquemment étudiée est celle de la β -glucosidase.

L'activité de la **β -glucosidase** a été employée pour étudier l'impact de différentes mesures de gestion agricole (Tableau 7.5.). En effet, cette activité enzymatique est sensible à la fertilisation (minérale, organique) (Gianfreda *et al.*, 2005; Mijangos *et al.*, 2006 ; Hernandez *et al.*, 2007), à la rotation de culture (Udawatta *et al.*, 2009), à l'occupation des sols (Knight et Dick, 2004). L'activité de la β -glucosidase permet de détecter des différences induites par le type de plantes en milieu agricole (Lagormarsino *et al.*, 2009). Cette activité permet également d'étudier l'impact de pollution aux métaux lourds ou éléments trace métalliques (Cd, Pb, Mn, Cu,

Bhattacharyya *et al.*, 2008 ; Li *et al.*, 2009) et de suivre l'effet de la remédiation (Epelde *et al.*, 2008). Cette activité enzymatique est également sensible aux méthodes de gestion forestière telles l'occupation du sol (forêt primaire, secondaire, Zhang *et al.*, 2006 ; Gartzia-Bengoetxea *et al.*, 2009). L'activité de **la β -glucosidase** est sensible à l'âge des plantes si la différence d'âge est importante en milieu forestier (Chaer *et al.*, 2009 ; Gartzia-Bengoetxea *et al.*, 2009). Elle rend compte de la pollution aux métaux lourds en forêt (Cr, Co, Ni (Izquierdo *et al.*, 2005) et de l'efficacité de la remédiation (plantation végétaux, Zhang *et al.*, 2006). Concernant les sols urbains (zones désaffectées, sols miniers), elle est sensible à la pollution organique (hydrocarbure (Trasar-Cepeda *et al.*, 2000); PAH (Avidano *et al.*, 2005)), aux métaux lourds, (Zn, Pb, As, Cu, (Hinojosa *et al.*, 2008)) et aux techniques de remédiation (Moreno de las Heras *et al.*, 2009).

L'activité des **cellulases** a été utilisée pour étudier l'impact de pollution aux métaux lourds (Cu, As, Hg, Pb, Zn) et l'effet de la remédiation de sols contaminés (Avidano *et al.*, 2005 ; Izquierdo *et al.*, 2005 ; Zhang *et al.*, 2006) ainsi que pour étudier l'effet de l'occupation des sols en milieu forestier (forêt primaire, forêt secondaire (Zhang *et al.*, 2006), diverse monocultures (Gartzia-Bengoetxea *et al.*, 2009)).

L'activité des **invertases** a été employée pour étudier l'impact de différentes mesures de gestion agricole telles la fertilisation (Gianfreda *et al.*, 2005), le type de culture (Tao *et al.*, 2009), les pratiques de gestion (incorporation de résidus, paillage (Tao *et al.*, 2009)). Elle est aussi sensible aux méthodes de gestion forestière telle l'occupation des sols (monoculture conifères vs monoculture de feuillus (Pang *et al.*, 2009)).

Les **xylanases** ont été employées pour étudier l'effet de pollution aux métaux lourds en milieu agricole (Li *et al.*, 2009) et en milieu urbain (Avidano *et al.*, 2005).

Indicateur biologique : activités enzymatiques liées au cycle du C					
	usage	méthodes	sensibilité vis-à-vis de la gestion des sols	sensibilité vis-à-vis de l'âge/type de plante	sensibilité vis-à-vis de la pollution
β-glucosidase	agricole	bioessai (labo)	élevée	élevée	moyenne
	forêt	bioessai (labo)	élevée	moyenne	élevée
	urbain	bioessai (labo)	nd	nd	élevée
Cellulase	agricole	bioessai (labo)	nd	nd	nd
	forêt	bioessai (labo)	élevée	moyenne	élevée
	urbain	bioessai (labo)	nd	nd	élevée
Invertase	agricole	bioessai (labo)	élevée	élevée	élevée
	forêt	bioessai (labo)	élevée	faible	nd
	urbain	bioessai (labo)	nd	nd	élevée
Xylanase	agricole	bioessai (labo)	nd	nd	faible
	forêt	bioessai (labo)	nd	nd	nd
	urbain	bioessai (labo)	nd	nd	élevée

Tableau 7.5. Relevé des méthodes utilisées pour l'estimation des activités enzymatiques liées au cycle du carbone en milieux agricole, forestier, urbain et sensibilité vis-à-vis de pratiques de gestion (fertilisation, labour, occupation des sols), de l'âge/type des plantes, de diverses pollutions (métaux lourds, hydrocarbures, ...).

Concernant l'étude des activités enzymatiques liées au cycle de l'azote (Tableau 7.6.), l'enzyme la plus fréquemment employée dans la littérature est l'uréase. L'aminopeptidase a été rencontrée une fois dans la littérature (Gartzia -Bengoetxea *et al.*, 2009) et ne permet pas de détecter des différences dues à l'occupation des sols (forêt de feuillus vs forêt de conifères) ou à l'âge des plantations. L'activité des uréases permet de détecter des modifications dues aux pratiques de gestion agricole. Elle est sensible à la fertilisation (Li *et al.*, 2008 ; Tao *et al.*, 2009), au labour (Ekenler et Tabatai, 2004), à l'occupation sol (jachère, monoculture de céréale, Biderbeck *et al.*, 2005). Elle est sensible à la pollution en zone agricole (As, Bhattacharyya *et al.*, 2008), en zone forestière (Ni, Cr, Co, Izquierdio *et al.*, 2005) et en zone urbaine (pollution métaux lourds, Hinojosa *et al.*, 2008); pollution aux PAH (Andreoni *et al.*, 2004 ; Baran *et al.*, 2004)). L'activité de l'uréase permet également de suivre les techniques de remédiation en forêt (Zhang *et al.*, 2006). Elle est aussi sensible à l'âge des essences forestières mais pas au type (feuillus vs conifères (Pang *et al.*, 2009)). L'activité de la protéase est sensible à la fertilisation (Dinesh *et al.*, 2010) et au labour (Madejon *et al.*, 2009). Elle est sensible au type de plantes (Tao *et al.*, 2009) en zone agricole mais pas en forêt (Chaer *et al.*, 2009). Pour les zones forestières, elle permet le suivi de la remédiation (Zhang *et al.*, 2006). En zone urbaine, elle est sensible au pollution aux PAH (Baran *et al.*, 2004).

Indicateur biologique : activités enzymatiques liées au cycle de N					
	usage	méthodes	sensibilité vis-à-vis de la gestion des sols	sensibilité vis-à-vis de l'âge/type de plante	sensibilité vis-à-vis de la pollution
Protéase	agricole	bioessai (labo)	élevée	élevée	nd
	forêt	bioessai (labo)	nd	faible	élevée
	urbain	bioessai (labo)	nd	nd	élevée
Uréase	agricole	bioessai (labo)	élevée	nd	nd
	forêt	bioessai (labo)	nd	moyenne	élevée
	urbain	bioessai (labo)	nd	nd	élevée
Aminopeptidase	agricole	bioessai (labo)	nd	nd	nd
	forêt	bioessai (labo)	faible	faible	nd
	urbain	bioessai (labo)	nd	nd	nd

Tableau 7.6. Relevé des méthodes utilisées pour l'estimation des activités enzymatiques liées au cycle de l'azote en milieux agricole, forestier, urbain et sensibilité de ces activités enzymatiques vis-à-vis de pratiques de gestion (fertilisation, labour, occupation des sols), de l'âge/type des plantes, de diverses pollutions (métaux lourds, hydrocarbures, ...).

Les activités enzymatiques liées aux cycles du soufre et du phosphore sont les activités des arylsulphatases et phosphatases, respectivement. Les **arylsulphatases** sont capables d'hydrolyser les esters de sulfate en phénol et sulfates inorganiques, utilisables par les plantes. Dans la littérature, les arylsulphatases sont sensibles à la pollution aux métaux lourds (Hinojosa *et al.*, 2008), aux amines aromatiques (Pozo *et al.*, 2003), aux PAH (Andreoni *et al.*, 2004). Elles ne permettent pas de rendre compte de l'impact de la fertilisation (Mijanguos *et al.*, 2006 ; Lagomarsino *et al.*, 2009), ni du labourage (Mijangos *et al.*, 2006) mais bien de l'occupation des sols (jachères, cultures, Biederbeck *et al.*, 2005). Aucun article n'étudie cet enzyme en milieu forestier.

Les **phosphatases** sont des enzymes pouvant catalyser l'hydrolyse des esters et des anhydres de phosphate en phosphate inorganique. L'activité des phosphatases est moyennement sensible à la fertilisation (en fonction du fertilisant appliqué, Jordan *et al.*, 2004 ; Gianfreda *et al.*, 2005). Elle est sensible à l'occupation des sols (Sicardi *et al.*, 2004 ; Biederbeck *et al.*, 2005), au type de végétation (Tao *et al.*, 2009 ; Ramos *et al.*, 2010), à la pollution en amines (Pozo *et al.*, 2003), à celle aux métaux lourds et PAH (Malizewska-Kordybach *et al.*, 2003) en milieu agricole. Elle est sensible à l'âge des essences forestières (Perez- de Mora *et al.*, 2008 ; Chaer *et al.*, 2009) et à l'occupation des sols (feuillus vs. conifères, Gartzia-Bengoetxea *et al.*, 2009). Elle n'est pas sensible à la pollution aux métaux lourds (Epelde *et al.*, 2008 ; Li *et al.*, 2009) mais bien au suivi de remédiation en zone urbaines (Baran *et al.*, 2004 ; Hinojosa *et al.*, 2008).

Une autre façon d'aborder les activités enzymatiques est d'étudier l'**hydrolyse de la fluorescéine diacétate (FDA)**. La FDA est hydrolysée par de nombreux enzymes tels des protéases, des lipases et des estérases. Cette méthode rend compte de l'activité des bactéries et des champignons. Ce bio-essai présente l'avantage non négligeable de ne pas être spécifique à un seul enzyme. L'hydrolyse de la FDA représente un composant microbien qui joue un rôle central dans l'écologie des sols (décomposition de la matière organique). Elle est sensible à l'occupation des sols (Sicardi *et al.*, 2004), aux rotations de culture (Udawatta *et al.*, 2008) ainsi qu'au pesticide (Zabaloy *et al.*, 2008). Elle est également sensible à la pollution aux métaux lourds (Li *et al.*, 2008) et aux PAH (Andreoni *et al.*, 2004).

Une autre activité enzymatique fréquemment étudiée est la **déhydrogénase**. Contrairement aux autres activités enzymatiques, celle-ci est exclusivement d'origine biotique. Cependant, elle n'est pas toujours corrélée avec l'activité microbienne (Frankenberger et Dick, 1983). Dans la littérature, l'activité de la déhydrogénase a été employée pour détecter des changements dus aux pratiques de gestion agricole telles la fertilisation (Gianfreda *et al.*, 2005 ; Hernandez *et al.*, 2007), l'occupation des sols (Sicardi *et al.*, 2004 ; Udawatta *et al.*, 2008), le labour (Lupwayi *et al.*, 2007), le type de culture (Lagormarsino *et al.*, 2009 ; Tao *et al.*, 2009) ainsi qu'à la rotation de culture (Udawatta *et al.*, 2008). Elle est sensible aux métaux lourds, excepté le plomb (Malizewska-Kordybach *et al.*, 2003 ; Epelde *et al.*, 2008 ; Hinojosa *et al.*, 2008) et aux PAH (Baran *et al.*, 2004). En forêt, elle est sensible à l'occupation des sols (Nogueira *et al.*, 2006).

En raison de l'extraction incomplète des enzymes du sol, on étudie l'activité des enzymes directement dans le sol (Tabatai, 1982). Ces bio-essais impliquent l'ajout d'une concentration connue en substrat (saturation en substrat) au sol et l'estimation du taux de consommation du substrat ou de formation du produit par réaction colorimétrique. La mesure de formation du produit, plus sensible, est souvent préférée. Afin d'éviter tous risques de multiplication des micro-organismes, les essais se déroulent à court terme (quelques heures maximum d'incubation). Bien que ces essais puissent se dérouler sur sol frais ou sur sol sec, les mesures sur sol frais semblent plus fiables (Gianfreda et Ruggiero, 2006).

Cette technique présente de nombreux avantages : elle est simple, utilisable en routine, n'emploie aucune substance toxique. Elle permet d'évaluer l'impact de polluant et la détermination de la valeur de la dose écologique (ED_{50}) fournit un mécanisme pour quantifier cet impact (Moreno *et al.*, 2002). Le ED_{50} est la concentration en polluant à laquelle l'activité enzymatique est réduite de moitié. Cet outil peut être employé lorsque l'on souhaite étudier l'évolution de mesures de remédiation. Cependant, l'étude des enzymes du sol est sujette à un certain nombre de limitations qui rendent l'interprétation des résultats difficiles. Par exemple, l'ajout de substrats artificiels peut affecter la cinétique enzymatique, une catalyse inorganique peut avoir lieu, et la variabilité temporelle des activités enzymatiques est mal connue. De plus, les activités microbiennes impliquent un large éventail d'activités enzymatiques, de sorte que l'étude d'une seule activité enzymatique ne peut refléter l'état général du sol (Nannipieri, 1994). Les activités enzymatiques sont recommandées comme indicateurs dans différents programmes de suivi des sols (Hongrie, Tchéquie, Autriche, France, Angleterre).

7.2.1.3. Les indices écophysologiques

Le terme écophysologie implique une interdépendance entre le fonctionnement physiologique des cellules et les facteurs environnementaux. Les indices écophysologiques se fondent sur les performances physiologiques (respiration par exemple) de la biomasse microbienne totale. Toutes perturbations environnementales affectant certains membres de la communauté peuvent être détectées au niveau de la communauté par un changement de l'activité totale de la communauté.

Deux indices écophysologiques sont fréquemment cités dans la littérature : le quotient microbien (qmic) et le quotient métabolique (qCO_2).

Le **quotient microbien**, estimé par le rapport entre la biomasse microbienne et la teneur en carbone organique total du sol, représente la disponibilité du carbone organique (Anderson et Domsch, 1990). Il peut être employé comme indicateur de perte ou d'accumulation de carbone par le système car il représente le carbone disponible pour la croissance (Anderson et Domsch, 1985). Ce rapport est plus facilement interprétable que la biomasse seule en tant qu'indicateur car il nous permet de comparer des sols présentant diverses teneurs en matière organique. Cependant, il est nécessaire de disposer de valeur seuil pour les sols présentant des différences minéralogiques.

Le quotient microbien (Tableau 7.7.) est sensible aux pratiques de gestion agricole telles la fertilisation (Hernandez *et al.*, 2007 ; Marinari *et al.*, 2007 ; Boghal *et al.*, 2009), la rotation de culture (Nelson *et al.*, 2009). Contrairement au milieu agricole (Lagormarsino *et al.*, 2009), le qmic est sensible aux types de plante en milieu forestier (Reyes-Reyes *et al.*, 2007). Le qmic est aussi sensible à la pollution en milieu forestier (Pérez-de Mora *et al.*, 2008). Des valeurs de qmic spécifiques au site doivent être développées et le qmic peut alors servir comme indicateur de changements environnementaux.

Indicateur biologique : indices écophysologiques				
usage	méthodes	sensibilité vis-à-vis de la gestion des sols	sensibilité vis-à-vis de l'âge/type de plante	sensibilité vis-à-vis de la pollution
agricole	Cmic/Ctot	élevée	aucune	nd
forêt	Cmic/Ctot	élevée	nd	élevée
agricole	BR/ Cmic	moyenne	élevée	nd
forêt	BR/Cmic	élevée	élevée	élevée

Tableau 7.7. Relevé des méthodes utilisées pour l'estimation des indices écophysologiques en milieux agricole, forestier, urbain et sensibilité de ces indices écophysologiques vis-à-vis de pratiques de gestion (fertilisation, labour, occupation des sols), de l'âge/type des plantes, de diverses pollutions (métaux lourds, hydrocarbures, ...).

Le **quotient métabolique** (qCO_2), obtenu en divisant la respiration par la biomasse microbienne, est une mesure qui reflète l'énergie nécessaire à l'entretien de la cellule (Anderson et Domsch, 1985). En tant qu'entité physiologique, le qCO_2 est constant sous des conditions environnementales stables et il permet de comparer des sols différant dans leur teneur en carbone. Cependant, l'interprétation des résultats peut être délicate car un qCO_2 élevé peut être le signe d'un stress, mais aussi d'un système immature ou d'un substrat plus disponible (Sparling, 1997). Bien que sa fiabilité en tant qu'indicateur ait été critiquée (Wardle et Ghani, 1995), le qCO_2 est utile pour rendre compte de l'utilisation des ressources carbonées et de la limitation en substrat pour les micro-organismes du sol (Dilly et Munch, 1998). Des valeurs de référence sont nécessaires pour des sites présentant des différences de minéralogies.

Le qCO_2 est sensible à certaines pratiques de gestion (Tableau 7.7.). Il est sensible à la fertilisation (Guerrero *et al.*, 2007 ; Marinari *et al.* 2007 ; Freschet *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2008) mais pas à la rotation de culture (Nelson *et al.*, 2009). Il est sensible à l'âge et au type d'arbre (Olszowska, 2009 ; Jia *et al.*, 2010) à l'occupation des sols (Chapman *et al.*, 2003) et à la pollution en métaux lourds (Pérez-de Mora *et al.*, 2008) en milieu forestier. Il est utilisé comme indicateur de la qualité biologique des sols en Allemagne.

7.2.1.4. Diversité microbienne des sols et structure de la communauté microbienne

Le sol est un milieu très diversifié pouvant contenir jusqu'à 10 billions ou plus de cellules bactériennes par gramme, en plus d'un nombre important de champignons et de protozoaires. Nos connaissances de la diversité microbienne sont limitées en raison du faible nombre de micro-organismes cultivables (Van Elsas et Rutgers, 2006). L'avènement des techniques moléculaires (ne requérant pas la mise en culture des micro-organismes) a mis en évidence une étonnante richesse en micro-organismes, qui sont assez différents des isolats de culture (Liesack et Stackebrandt, 1992). Aujourd'hui, on estime qu'un gramme de sol peut contenir plus de 4000 génomes différents (Torsvik *et al.*, 1990). Comme les micro-organismes interviennent dans les services écosystémiques de support et de régulation, la diversité des micro-organismes peut être un indicateur de la qualité du sol. Cependant, bien que de certaines études montrent une implication de la diversité microbienne dans le fonctionnement des écosystèmes (Balser, 2000 ; Cavigelli et Robertson, 2000 ; Hawkes *et al.*, 2005), le lien entre la diversité et la fonction n'est pas encore clairement établi. En écologie microbienne, la diversité peut être estimée par approches phénotypiques ou génotypiques et peut être exprimée en terme de diversité génétique, de diversité structurelle (structure de la communauté microbienne) ou de diversité fonctionnelle (métabolique) (Torsvik *et al.*, 1996).

7.2.1.4.1. Diversité génétique et diversité structurelle

La diversité génétique consiste en la quantité et la distribution de l'information génétique. Pour étudier les micro-organismes non cultivables, de nombreuses techniques moléculaires ainsi que des techniques biochimiques ont été développées.

Les **techniques moléculaires** sont basées sur l'analyse de l'ADN (gènes des ARN ribosomiaux ou ITS (Internally Transcribed Spacer)) des micro-organismes du sol. Ces analyses nécessitent l'extraction, l'amplification et la

séparation du matériel génétique présent dans le sol. De nombreuses techniques d'extraction ont été décrites en fonction du type de sol étudié (Akkermans *et al.*, 1995 ; Kowalchuk *et al.*, 2004) et des kits commerciaux permettent d'extraire, de façon efficace, le matériel génétique du sol. Afin de disposer de suffisamment de matériel, l'ADN extrait du sol doit être amplifié par réaction de polymérisation en chaîne (PCR). Cette étape doit être optimisée pour chaque type de sol afin de réduire les différents biais inhérents à la technique (inhibition par des substances co-extraites (acides humiques) avec le matériel génétique, amplification différentielle du matériel, recombinaison des produits PCR (von Wintzingerode *et al.*, 1997)). Ensuite, on étudie la structure de la communauté en séparant les produits PCR par diverses approches : RFLP, ARDRA, SSCP, DGGE, TGGE.... Lors de l'analyse **RFLP** (Restriction Fragment Length Polymorphisms) ou **ARDRA** (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis), des fragments de différentes tailles, obtenus par digestion des produits PCR avec des enzymes de restriction, sont visualisés par électrophorèse (Soultos et Madden, 2007). Bien qu'utilisable en routine (par marquage des produits PCR par des amorces fluorescentes (TRFLP)), l'utilisation de différentes restrictions (divers enzymes) est nécessaire pour obtenir une résolution adéquate. De plus, la digestion peut être parfois incomplète (Smalla *et al.*, 2007), affectant ainsi la reproductibilité des résultats. Lors de l'analyse SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism), on visualise la migration différentielle (selon leur structure secondaire) dans un gel de polyacrilamide des ADN simple brin, obtenus par dénaturation chimique des produits PCR (Lee *et al.*, 1996). Bien que cette technique permette le séquençage de bandes d'intérêt après excision et puisse être automatisée (CE-SSCP), l'interprétation des résultats peut être délicate car une espèce peut présenter plusieurs bandes (ré-appariement de brins séparés). On peut séparer les produits PCR par électrophorèse sur gel en gradient dénaturant (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis-**DGGE**) ou électrophorèse en gradient de température (Temperature Gradient Gel Electrophoresis-**TGGE**). Ces techniques permettent de séparer des fragments de même taille en fonction de leur séquence nucléotidique (Fisher et Lehrmann, 1983) dans un gradient de dénaturation chimique (DGGE) ou thermique (TGGE). Ces deux techniques sont plus reproductibles que la SSCP et la RFLP (Okubo et Sugiyama, 2009) et permettent le séquençage des bandes d'intérêt après excision. Toutes ces méthodes étudient les populations majoritaires. Une autre méthode d'analyse moléculaire est la méthode **RISA** (Ribosomal Intergenic Spacer Analysis) qui repose sur l'hétérogénéité de la taille et de la séquence nucléotidique des ITS (Soleiman et Marschner, 2007). Les bandes d'intérêt peuvent être séquencées après excision et cette méthode peut être automatisée (ARISA). Cependant, une espèce peut avoir plusieurs signaux (Huybens *et al.*, 2009).

Indicateur biologique : diversité structurelle				
usage	méthodes	sensibilité vis-à-vis de la gestion des sols	sensibilité vis-à-vis de l'âge/type de plante	sensibilité vis-à-vis de la pollution
agricole	DGGE	élevée	nd	nd
urbain	DGGE	nd	nd	élevée

Tableau 7.8. Relevé des méthodes utilisées pour l'estimation de la diversité structurelle en milieux agricole, forestier, urbain et sensibilité de la diversité structurelle vis-à-vis de pratiques de gestion (fertilisation, labour, occupation des sols), de l'âge/type des plantes, de diverses pollutions (métaux lourds, hydrocarbures, ...).

Dans notre relevé de littérature, seule la DGGE a été employée (Tableau 7.8.). Elle est sensible à l'occupation des sols (Aboim *et al.*, 2008) ainsi qu'à la pollution aux PAH (Andreoni *et al.*, 2004).

Les méthodes moléculaires présentent l'avantage d'étudier la diversité microbienne sans étapes de cultures préalables mais requièrent de multiples optimisations pour chaque type de sol afin d'être fiables et reproductibles (optimisation des méthodes d'extraction, des PCR, des techniques de séparation) et ne sont pas quantitatives. Les analyses des résultats sont longues, parfois ardues. Une limite majeure à l'étude de la diversité génétique des micro-organismes du sol est l'absence de définition officielle d'une espèce bactérienne (Ovreas, 2000 ; Kirk *et al.*, 2004). En effet, la notion d'espèce est basée non seulement sur la ressemblance mais aussi sur l'interfécondité des individus constituant une population, et dont les descendants sont eux-mêmes interféconds. Cette définition ne s'applique qu'aux espèces à reproduction bisexuée, et donc pas aux micro-organismes (Levêque et Mounoulou, 2001). Une espèce bactérienne est définie génétiquement (genomospecies) comme l'ensemble des souches présentant avec la souche type des relations ADN-ADN qui se

traduisent par des valeurs d'hybridation supérieures ou égales à 70 pour cent (Wayne *et al.*, 1987 ; Stackebrandt *et al.*, 2002)

La composition de la communauté microbienne (diversité structurelle) peut également être étudiée par une méthode d'analyse biochimique : **l'analyse des profils des acides gras phospholipidiques** (PhosphoLipid Fatty Acid-PLFA). Cette technique est basée sur l'extraction, le fractionnement, la méthylation et l'analyse par chromatographie gazeuse des constituants lipidiques. Les **PLFA** sont des composants stables des parois cellulaires de la plupart des micro-organismes vivants du sol (Winding *et al.*, 2005), se décomposant rapidement après la mort des organismes (Nannipieri *et al.*, 2003). De plus, ils sont spécifiques de certains groupes de micro-organismes tels les bactéries Gram-positives, les bactéries Gram-négatives, les méthanotrophes, les champignons, les mycorhizes et les actinomycètes (Zelles, 1999). Il est donc possible par cette technique de quantifier les différents groupes de micro-organismes présents (Winding *et al.*, 2005). Diverses techniques d'extraction existent : l'analyse des acides gras cellulaires par le système d'identification microbienne (MIDI), la méthode d'extraction simple et la méthode prolongée. Chacune de ces méthodes présente des avantages et inconvénients.

La méthode d'analyse des acides gras cellulaires par **MIDI**, développée pour analyser les acides gras issus de cultures pures croissant en laboratoire, peut maintenant être utilisée pour analyser des échantillons environnementaux (eau, sol). Cette méthode consiste en l'analyse (chromatographie gazeuse) des esters méthyliques d'acide gras (Fatty Acid Methyl Esther-FAME) formés par saponification directe suivie d'une méthylation des lipides sans fractionnement de ceux-ci. Cette méthode est facile et rapide mais détermine les profils des acides gras de référence qui sont extraits des cultures pures pouvant être soit des acides membranaires ou des acides gras provenant de lipides extracellulaires (Peterson *et al.*, 2002). Lors de l'extraction **simple**, les lipides sont fractionnés en différentes classes lipidiques (les lipides neutres, les glycolipides et les phospholipides) et la fraction phospholipidique, après méthylation, est analysée par chromatographe gazeuse. Cette méthode n'extrait que les PLFA estérifiés et ne permet pas d'identifier les micro-organismes présents en faible nombre. La méthode simple est pourtant la méthode la plus couramment employée car elle est facile à mettre en place. Lors de l'extraction **prolongée**, une méthode d'extraction plus complexe est employée après la méthode d'extraction simple afin de fractionner les acides gras en groupes pertinents d'un point de vue chimique. Cette méthode permet d'étudier les PLFA estérifiés et non-estérifiés (Zelles *et al.*, 1999 ; Kauer *et al.*, 2005).

Les PLFA sont sensibles aux pratiques de gestion agricole (Tableau 7.9.) comme le labourage (González-Chávez *et al.*, 2010), la rotation de culture (González-Chávez *et al.*, 2010), aux types de plantes (céréales-légumineuses, Jokela *et al.*, 2009) ainsi qu'à l'occupation des sols (prairies, champ, Mc Kinley *et al.*, 2005). En milieu forestier, les PLFA sont sensibles aux types de culture (feuillus-conifères) et à l'âge des plantations (Gartzia-Bengoetxea *et al.*, 2009). Les PLFA sont sensibles à la pollution aux métaux lourds (Zn, Pb, Zhang *et al.*, 2006) en zone urbaine.

Indicateur biologique : diversité structurelle				
usage	méthodes	sensibilité vis-à-vis de la gestion des sols	sensibilité vis-à-vis de l'âge/type de plante	sensibilité vis-à-vis de la pollution
agricole	PLFA	élevée	élevée (type)	élevée
urbain	PLFA	nd	nd	élevée

Tableau 7.9. Relevé des méthodes utilisées pour l'estimation de la diversité structurelle en milieux agricole, forestier, urbain et sensibilité de la diversité structurelle vis-à-vis de pratiques de gestion (fertilisation, labour, occupation des sols), de l'âge/type des plantes, de diverses pollutions (métaux lourds, hydrocarbures , ...).

L'analyse des PLFA présente l'avantage d'être plus reproductible que les analyses moléculaires. Cependant, les analyses sont longues et utilisent des solvants et autres substances toxiques (chloroforme, hexane, toluène). Les résultats obtenus sur sols frais sont plus fiables que ceux obtenus sur sols lyophilisés (Yuping *et al.*, 2009). De

plus, les manipulations sont assez contraignantes pour l'expérimentateur car les acides gras sont détruits par l'oxygène, l'eau, la lumière et la chaleur.

7.2.1.4.2. Diversité métabolique ou fonctionnelle

La **diversité fonctionnelle** peut être définie comme le nombre, le type de substrats utilisables par la communauté bactérienne et la vitesse à laquelle ces substrats sont utilisés (Zak *et al.*, 1994). La diversité fonctionnelle serait plus importante que la diversité génétique ou structurelle pour la stabilité à long terme des écosystèmes (Pankhurst *et al.*, 1996 ; Insam et Goberna, 2004) et peut donc être employée comme indicateur de la qualité du sol. La diversité fonctionnelle peut être étudiée par analyse des profils physiologiques (Community-Level-Physiological-Profiling ou **CLPP**) en utilisant les profils d'utilisation de source unique de carbone. Cette méthode fournit des informations sur les fonctions métaboliques du sol dans leur ensemble plutôt que sur une fonction spécifique.

Indicateur biologique : diversité fonctionnelle				
usage	méthodes	sensibilité vis-à-vis de la gestion des sols	sensibilité vis-à-vis de l'âge/type de plante	sensibilité vis-à-vis de la pollution
agricole	CLPP-Biolog	élevée	élevée (type)	élevée
forestier	CLPP-Biolog	élevée	nd	nd
urbain	CLPP-Biolog	nd	nd	élevée

Tableau 7.10. Relevé des méthodes utilisées pour l'estimation de la diversité fonctionnelle en milieux agricole, forestier, urbain et sensibilité de la diversité structurelle vis-à-vis de pratiques de gestion (fertilisation, labour, occupation des sols), de l'âge/type des plantes, de diverses pollutions (métaux lourds, hydrocarbures, ...).

La diversité fonctionnelle est sensible aux pratiques de gestion agricole (Tableau 7.10.) telles le labourage (Gomez *et al.*, 2004), l'emploi de pesticides (Zabaloy *et al.*, 2008), la fertilisation (Mijangos *et al.*, 2006) et à l'occupation des sols (prairie, culture, Gomez *et al.*, 2000). La diversité fonctionnelle est aussi sensible aux types de plantes et à la pollution aux métaux lourds en zone agricole (Epelde *et al.*, 2010). Elle est aussi sensible à la fertilisation en milieu forestier (Alarcón-Gutiérrez *et al.*, 2008). Elle rend compte de changements dus à la pollution en métaux lourds (Cu, As, Hg, Avidano *et al.*, 2005) en zone urbaine.

La méthode des **CLPP** implique une inoculation directe des échantillons environnementaux sur une microplaque Biolog (contenant différentes sources de carbone, des nutriments ainsi qu'un indicateur coloré) suivie d'une incubation et de la détection spectrophotométrique de l'activité microbienne. Les microplaques étaient initialement développées pour l'identification de souches cliniques (microplaques avec 95 substrats, 'GP2' pour les bactéries G+ ; 'GN2' pour les bactéries G-) et ensuite des microplaques adaptées pour l'inoculation avec des extraits d'échantillons environnementaux ('Ecoplates', 31 substrats, répétés 3X) ont été élaborées. Cette méthode représente l'activité des bactéries cultivables et non celle des champignons qui ne peuvent pas réduire l'indicateur coloré (sel de tétrazolium). Cette méthode, rapide et reproductible (Haack *et al.*, 1995 ; Gomez *et al.*, 2004), est sensible à la densité de l'inoculum et à la durée de l'incubation. Plusieurs approches permettent de réduire les biais inhérents à ces sensibilités. La standardisation de la densité de l'inoculum est fréquemment employée bien que le choix de la méthode d'énumération (comptage, respiration induite, ...) soit toujours débattu. Une autre technique consiste en la normalisation de la densité optique en la divisant par la coloration moyenne des cellules (average well colour developemnt-AWCD). Une autre méthode de normalisation consiste à intégrer les valeurs de densité optique provenant de quatre dilutions du même échantillon plutôt qu'une seule dilution de cet échantillon. Cette technique est indépendante du temps d'incubation et de la densité de l'inoculum (Rutgers *et al.*, 2006).

La diversité fonctionnelle peut être aussi étudiée par la mesure de la **diversité des ARNm** (acides ribonucléiques messagers). Les ARNm sont des copies transitoires d'une portion de l'ADN (acide désoxyribonucléique) correspondant à un ou plusieurs gènes. L'ARNm est utilisé comme intermédiaire par les cellules pour la synthèse de protéines spécifiques. La séquence nucléotidique des ARNm reflète le type de

protéines ou d'enzymes synthétisés. La concentration des ARN messagers est corrélée avec le taux de synthèse des protéines et donc avec l'activité des micro-organismes (Nielsen *et al.*, 2002). Contrairement au CLPP, le contenu et la diversité des ARNm reflètent les fonctions in situ. La détection et la quantification d'ARNm spécifiques peuvent se faire par RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction). Cependant, l'extraction fiable des ARNm est toujours un challenge pour les microbiologistes du sol (Bürgmann *et al.*, 2003) car de nombreuses surfaces (argiles, acides humiques) peuvent fixer les ARN, des RNases présentes dans le sol peuvent dégrader les ARN lors de l'extraction.

La RT-PCR, bien qu'étant une méthode très sensible et adéquate pour les échantillons environnementaux (Mendum *et al.*, 1998), est soumise aux mêmes limitations que celles décrites pour la PCR (§7.2.1.4.1).

7.2.2. La faune du sol

7.2.1.2. La diversité de la microfaune

La microfaune est définie comme les animaux de petite taille (1 à 100 µm), invisibles à l'œil nu (Ramade, 2002). Elle est constituée de protozoaires, nématodes et rotifères (cfr. chapitre 4). La microfaune joue un rôle dans les services écosystémiques de support (décomposition de la matière organique, minéralisation des nutriments). De plus, elle régule la densité des populations de bactéries et champignons (Brussard *et al.*, 2004). La microfaune du sol peut être utilisée comme indicateur de la qualité du sol car (i) les interactions entre micro-organismes et microfaune (particulièrement les protozoaires et les nématodes) régulent le turnover de la matière organique du sol (Elliot *et al.*, 1984) et (ii) la microfaune intervient dans le cycle de l'azote. En effet, la microfaune (particulièrement les protozoaires et les nématodes prédateurs de bactéries) contribue à 30% de la minéralisation nette de l'azote (Griffiths, 1994), pouvant ainsi influencer indirectement les services écosystémiques de régulation. Pour étudier la diversité des espèces, on peut utiliser la richesse spécifique c'est à dire le nombre d'espèces présentes. On peut aussi calculer différents indices de diversité qui nous fournissent plus d'informations sur la structure de la communauté que la richesse spécifique. On peut estimer l'indice de Shannon (H') qui combine richesse taxonomique et équitabilité ou l'indice d'équitabilité (evenness, J') qui est une mesure du degré de régularité dans l'abondance relative des individus de diverses espèces au sein d'une communauté (Ramade, 2002). Ces indices sont calculés comme suit :

$$\text{Indice de Shannon} = H' = \sum_{i=1}^S p_i \log_e p_i$$

$$\text{Indice d'équitabilité} = J' = \frac{H'}{H'_{\max}} \text{ avec } H'_{\max} = \log_e S$$

Avec S= le nombre de taxons identifiés et p= la proportion d'individus dans le taxon i.

Cependant, différents auteurs (Grupta et Yeates, 1997) s'accordent pour dire que ces indicateurs de diversité ne sont pas sans ambiguïtés. En effet, si un nombre d'espèces est remplacé par un nombre égal d'autres espèces, ces indicateurs ne changent pas. On peut employer des indicateurs qui se basent sur l'abondance relative de groupes taxonomiques (pour les protozoaires : abondance des flagellés, ciliés et rhizopodes), de groupes nutritionnels (nématodes bacterivores, fongivores,...). En raison des difficultés dans la quantification et l'identification de la microfaune, peu d'indicateurs pratiques ont été développés. Un tel index dit index de maturité a été développé (MI index) pour les nématodes. Nous le décrirons ci-dessous.

Peu d'articles sont consacrés à la diversité des protozoaires et nématodes en tant qu'indicateurs de qualité des sols. Cela peut s'expliquer par la difficulté d'étude des organismes de petites tailles, le temps et les connaissances taxonomiques spécifiques nécessaires (Foissner, 1999). La diversité des protozoaires est moyennement sensible aux pratiques de gestion agricole. En effet, la diversité des protozoaires flagellés est sensible à l'occupation des sols contrairement à celles des protozoaires ciliés (Arroyo *et al.*, 2006). De plus, la diversité des protozoaires n'est pas sensible aux fongicides et herbicides (Petz et Foissner, 1989). La diversité des nématodes est sensible à l'occupation des sols (sols cultivés, prairies, Saggar *et al.*, 2001) mais pas aux pratiques de gestion telles la fertilisation (amendement organique et inorganique, Vestberg *et al.*, 2009) ou le labour (Mendoza *et al.*, 2008).

Les protozoaires peuvent être étudiés par culture ou par comptage direct. Lors de l'approche par comptage direct, les protozoaires présents dans l'échantillon sont identifiés et comptés (Foissner, 1987). Lors de l'approche par culture, une petite quantité de sol issu de dilutions sériées est incubée dans de petits puits

inoculés avec une seule espèce bactérienne comme source de nourriture. En se basant sur la présence ou l'absence dans chaque puit, on peut calculer la densité de la population (MPN-most probable number) (Singh, 1946). Les techniques de culture fournissent des résultats très peu fiables concernant le nombre de protozoaires actifs dans le sol (Berthold et Palzenberg, 1995 ; Foissner, 1987). De plus, le comptage direct n'est pas approprié pour l'étude des flagellés et rhizopodes car ceux-ci adhèrent fortement aux particules de sol (Foissner, 1999).

Les nématodes peuvent être extraits des sols par méthodes passives ou actives. Pour plus de précision dans la détermination des populations, la méthode passive (flottaison) est privilégiée. Cette méthode utilisant un entonnoir de Baermann est simple et peu coûteuse en matériel. Le sol est placé sur un filtre, dans un entonnoir et l'échantillon est ensuite immergé avec de l'eau. Les nématodes tombent dans le bas de l'entonnoir et peuvent être ainsi collectés (Colemann *et al.*, 2004). L'identification des différents taxons est une étape plus délicate. La plus grande différence morphologique entre les nématodes peut être observée au niveau de la tête des nématodes, en rapport avec leurs habitudes alimentaires. Différents groupes nutritionnels ont d'ailleurs été décrits : les consommateurs de plante, ceux de bactéries, ceux de champignons, les consommateurs de diatomées et autres algues, les parasites et les omnivores (Yeates *et al.*, 1993). Outre les indices courants de diversité (H' , J'), l'indice de maturité a été décrit pour les nématodes. Cet indice reflète la distribution des nématodes au travers des groupes fonctionnels (Bongers, 1990). Il se base sur la présence de colonisateurs (r-stratégiste) et de persistants (K-stratégiste) avec une échelle colonisateurs-persistants (c-p) allant de 1 à 5 (Bongers, 1990). L'indice de maturité se calcule comme suit :

$$MI = \sum_{i=1}^n v(i) f(i) \text{ avec } v(i)=\text{valeur (c-p) du taxon, et } f(i)=\text{la fréquence du taxon dans échantillon.}$$

7.2.2.2. La diversité de la mésofaune

La mésofaune du sol est définie comme l'ensemble des animaux dont la taille varie de 100 μm à 2 mm vivant dans le sol (Ramade, 2002). Elle est constituée des microarthropodes dont les collembolés, les acariens, les protoures, diploures et symphiles. Elle comprend aussi des oligochètes : les enchytréides.

La mésofaune occupe différents niveaux trophiques dans le réseau alimentaire du sol et affecte la production primaire (service de support) directement, en broutant les racines, ou indirectement en influençant les processus de décomposition et de recyclage des éléments nutritifs (Crossley *et al.*, 1992). La mésofaune régule les populations fongiques ainsi que la microfaune. De plus, en tenant compte des multiples relations entre les microarthropodes et leurs niches écologiques, la structure de la communauté des microarthropodes peut être considérée comme un indicateur de la qualité du sol. En effet, les microarthropodes ont une vie relativement sédentaire et reflète donc les conditions locales d'un habitat de bien meilleure façon que les arthropodes volants (van Straalen, 1997).

Outre les indices courants de diversité (Shannon, équitabilité,...), qui ne rendent pas compte de la composition taxonomique, d'autres informations basées sur la valeur des espèces au sein de la communauté ou sur la valeur des groupes écologiques peuvent être employées pour décrire la diversité des microarthropodes. Nous allons les décrire brièvement ci-dessous.

Les indicateurs basés sur les espèces au sein de la communauté

Il y a les indicateurs basés sur l'étude d'une seule espèce. L'emploi d'un tel indicateur est basé sur la supposition qu'une seule espèce de microarthropodes ou un groupe d'espèces liées pourrait rendre compte de changement des propriétés du sol. Bien que l'utilisation d'un indicateur basé sur une espèce soit attractif en raison de sa simplicité, il ne fournit pas une assez grande résolution pour rendre compte de changement subtil dans les propriétés du sol (van Straalen, 1997).

On peut étudier la structure de la communauté en entier. Une méthode, dite de Hågvard, est basée sur la dominance des espèces dans la structure de la communauté. La structure de la communauté peut être résumée par le biais d'une distribution de fréquence du nombre d'espèces tombant dans une gamme de classes d'abondance (Hågvard, 1994). Cette approche peut être intéressante mais elle ne s'applique que si de larges communautés sont présentes (+ de 100 espèces). De plus, cette approche requiert une bonne connaissance taxonomique.

Les indicateurs basés sur les groupes écologiques

Plusieurs espèces peuvent avoir un comportement similaire par rapport à certains facteurs environnementaux et il n'est pas nécessaire de faire la distinction entre ces espèces. Cela rend l'indicateur plus facile à utiliser que

les indicateurs basés sur la structure de la communauté. De plus, l'attribution de propriétés écologiques aux espèces rend la valeur de l'indicateur plus spécifique. Cependant, les microarthropodes appartenant à la même famille ou au même genre peuvent occuper différentes niches écologiques. Pour augmenter la valeur de ces communautés en tant qu'indicateurs potentiels, diverses méthodes de classification des microarthropodes ont été envisagées. On a tenté de développer un indice comparable à celui développé pour les nématodes (Maturity index) et donc basé sur la vie des collemboles et acariens mais sans succès. Une autre approche est de classer les microarthropodes en groupes nutritionnels. Cependant, ces analyses sont difficiles car la plupart des microarthropodes ne présentent pas un grand degré de spécialisation dans leur alimentation. L'index BSQ, basé sur les formes de vie (life-form approach), se fonde sur l'idée qu'un sol de bonne qualité est associé au nombre de microarthropodes adaptés à ce type de sol. En effet, les microarthropodes présentent des caractéristiques morphologiques, révélant leurs adaptations à l'environnement et permettant d'accéder à leurs degrés de spécialisation sans identifications taxonomiques, telles la réduction ou la perte de la vue, de la pigmentation, des adaptations au saut ou à la course. Pour calculer cet index, chaque morphotype reçoit un indice ecomorphologique (EMI score) proportionnel à son niveau d'adaptation. Cet index est avantageux car il peut être utilisé par des non spécialistes (pas besoin de définir les espèces) et il ne nécessite pas l'estimation de l'abondance des organismes (Gardi *et al.*, 2002).

Peu d'articles étudient la diversité de la mésofaune en rapport avec la qualité du sol. Il apparaît que différents auteurs ont utilisé l'index BSQ avec succès pour rendre compte des pratiques de gestion telles la fertilisation (Parisi *et al.*, 2005 ; Aspetti *et al.*, 2010), l'occupation des sols (Parisi *et al.*, 2005). De plus, cet indicateur est sensible aux types de cultures (Gardi *et al.*, 2002). D'autres recherches traitant de la diversité des microarthropodes et utilisant les indices courant de diversité (abondance, richesse spécifique, indice de Shannon) montrent que celle-ci rend compte de l'occupation des sols en milieu agricole et forestier (Baretta *et al.*, 2008 ; Barbecheck *et al.*, 2009).

Pour les collemboles et les acariens, l'énumération utilisant un entonnoir Tullgreen (création d'un gradient de température, induisant le mouvement des arthropodes qui sont collectés dans le bas de l'entonnoir) est assez simple. Cependant, l'identification des familles et espèces de microarthropodes nécessite des connaissances taxonomiques approfondies.

La diversité des enchytréides comme indicateur de la qualité des sols est apparue dans un seul article lors de notre relevé de littérature (Barbecheck *et al.*, 2009). Malgré l'abondance de ces oligochètes dans les sols, l'identification des différentes espèces est difficile. De plus, en raison des grandes variabilités spatiale et temporelle que présentent les enchytréides, leur étude nécessite un large nombre de réplicats.

7.2.2.3. La diversité de la macrofaune

La macrofaune peut être définie comme l'ensemble des organismes dont la taille est supérieure au millimètre (Ramade, 2002). Elle comprend les macroarthropodes (isopodes, diplopodes, chilopodes, araignées et les hyménoptères) ainsi que des annélides (vers de terre) et des mollusques (gastéropodes). La macrofaune participe à la décomposition de la matière organique et à la biodisponibilité des nutriments pour les plantes et les micro-organismes du sol. Elle joue également un rôle dans la création et la conservation de la structure du sol (Mayeux et Savanne, 1996) et participe à la régulation de la diversité des organismes plus petits (microflore, microfaune et mésofaune) (Lavelle et Spain, 2001).

Comme les techniques agricoles actuelles limitent la présence des fourmis et des espèces cryptozoaires telles les isopodes, diplopodes, chilopodes, ... (Doube et Schmidt, 1997), les macro-organismes les plus étudiés dans les sols agricoles sont les vers de terre. On peut estimer la biomasse des vers de terre ou leur nombre. Une autre approche est d'estimer la surface des turricules (déjections des lombrics à la surface du sol). Cependant, il est peu probable que cette méthode soit un indicateur fiable pour estimer l'activité des vers de terre car le taux de production de déjection varie selon l'espèce considérée et selon la densité et le contenu en eau des sols (Coleman *et al.*, 2004). Une autre approche est d'étudier la composition en espèce de la communauté mais cette approche est plus longue et est peu aisée à mettre en place en routine (Doube et Schmidt, 1997). La méthode la plus fiable pour échantillonner les vers de terre est de les sortir du sol à la main. Cependant, cette méthode est laborieuse. Les méthodes de flottaison ou d'expulsion électrique sont sélectives et leurs efficacités diffèrent selon les conditions du sol.

L'abondance et la biomasse des vers de terre sont sensibles aux pratiques de gestion agricole telles la fertilisation (Blair *et al.*, 1995 ; Mijangos *et al.*, 2006 ; Vestberg *et al.*, 2009), les rotations de culture et le labourage (Parmelee *et al.*, 1990 ; Coleman *et al.*, 1994 ; Mijangos *et al.*, 2006) mais pas à la rotation de culture (Doube et Schmidt, 1997) ou aux herbicides (Tomlin *et al.*, 1995) et à l'occupation des sols (Nelson *et al.*, 2009).

Elles sont également sensibles aux pollutions aux hydrocarbures (Dawson *et al.*, 2007). Elles sont aussi sensibles aux essences forestières (Cesarz *et al.*, 2007 ; Loranger-Merciris *et al.*, 2007).

En raison de leur taille, les vers de terre sont plus faciles à étudier que les organismes appartenant à la mésofaune. De plus, leur taxonomie est plus simple. Cependant, certains chercheurs estiment qu'il n'est pas nécessaire d'étudier la composition spécifique des vers de terre et qu'estimer leur nombre ou biomasse est plus utile pour estimer la qualité du sol (Doubé et Schmidt, 1997). De plus, en raison de leur longue durée de vie, échantillonner les vers de terre une ou deux fois par an est suffisant (Doubé et Schmidt, 1997).

8. Evaluation des outils

8.1. Pré-sélection des indicateurs

L'étape de pré-sélection des indicateurs est cruciale pour la suite de la mise en place d'un suivi des sols (chapitre 4). La procédure gagne à être sous-tendue par une approche méthodologique procédant par itération. Afin de sélectionner les indicateurs, un cadre conceptuel doit être mis en place. Nous nous sommes inspirés de la méthode « logical sieve » développée par Ritz *et al.* (2009). Il s'agit d'une évaluation numérique. Les scores et les poids ont été attribués sur base de notre expertise et des poids et scores développés par Ritz *et al.* (2009). Nous avons ciblé les indicateurs relevés dans la littérature (chapitre 7) sur base de critères techniques et scientifiques. Nous avons classé ces critères en trois groupes : la pertinence, l'applicabilité et les critères méthodologiques.

La **pertinence** de l'indicateur est sa capacité à intervenir dans les services écosystémiques de support, d'approvisionnement et de régulation au travers de processus ou d'éléments biotiques avec comme bénéfices attendus la production de nourriture ou de fibres ainsi que la maintien d'un environnement sain (Tableau 8.2.). Des scores de 0 à 2 sont attribués pour chacune des classes de services écosystémiques (0=non pertinent (intervient dans aucun processus de cette classe), 1= pertinent (intervient dans 1 ou 2 processus), 2= très pertinent (intervient dans minimum deux processus)).

L'**applicabilité** de l'indicateur est son applicabilité à différents types d'écosystèmes ou de milieu (0= non applicable, 1= applicable avec certaines restrictions, 2= applicable) ainsi que sa capacité à détecter des changements (sensibilité à la gestion et occupation des sols, sensibilité à la pollution ; score 0 =non sensible, 1= sensibilité modérée, 2= sensibilité élevée).

Les **critères méthodologiques** employés pour estimer la valeur d'un indicateur sont repris dans le tableau 8.1. Un score est attribué à chacun de ces critères et ce score est pondéré par un facteur reflétant l'importance relative que l'on attribue à ce critère.

Critères méthodologiques	Scores	poids
coût en temps (temps par échantillon)	0= quelque-uns par semaine 1= dizaines/semaine 2= centaines/semaine	3
coût en matériel	0= matériel spécifique obligatoire 1= matériel spécifique ou pas 2= matériel commun (verrerie,...)	1
Expertise et/ou savoir faire requis	0=expertise obligatoire 1=expertise nécessaire 2= aucun expertise requise	3
stockage du matériel	0=impossible 1=maximum 2 semaines 2= plus de deux semaines	3
Facilité utilisation, routine	0= difficile 1= moyenne 2= aisée	2
Valeur de comparaisons dans la littérature	0= peu 1= moyen 2= nombreuses	2
Indicateur proposé dans un autre programme de suivi	0= jamais 1=dans certains programmes 2= dans la majorité des programmes	2
Valeur iso ou méthode de référence	0=non 1=oui	2
Reproductibilité de la mesure	0= faible 1= moyenne 2= importante	4

Tableau 8.1. Critères méthodologiques employés pour la sélection d'indicateur, scores attribués et poids attribués à ces critères (d'après Ritz *et al.*, 2009, excepté pour les critères supplémentaires que nous avons inclus : expertise requise, valeur de comparaison dans la littérature, valeur ISO ou méthode de référence).

Le tableau 8.2. reprend la participation de chaque indicateur biologique à différents processus intervenant dans les services écosystémiques du sol afin d'estimer la pertinence des indicateurs.

Processus Indicateurs/ méthodes	Processus intervenant dans les services écosystémiques de support et d'approvisionnement										
	cycle C	décomposition de la matière organique	cycle N	cycle P	cycle S	activité microbienne	chaîne alimentaire	suppression maladie	bioturbation	bio- aggrégation	S _{SA}
Biomasse CFE-SIR	*	*	*	*	*	*	*			*	2
Activité microbienne- BR-SIR	*	*				*					2
Emission CH ₄		*				*					1
Minéralisation nette N (incubation aérobie)		*	*			*					2
Nitrification (incubation aérobie)			*			*					1
Dénitrification (acétylène inhibition)			*			*					1
Activités enzymatiques	*		*	*	*	*					2
Indices écophysio- logiques	*					*					1
Diversité structurelle- DGGE/TGGE	*	*	*	*				*			2
Diversité structurelle- PLFA	*		*								2
Diversité fonctionnelle- CLPP	*	*	*			*					2
Diversité microfaune	*	*	*				*	*			2
Diversité mésofaune		*					*				1
Diversité macrofaune		*					*		*	*	2

	Processus intervenant dans la classe de service écosystémique de régulation								
	ré- tention libération C	dégradation/ immobilisation Polluant	Ré- tention- libération N	bio- aggrégation	biotur- ba- tion	réser- voir de diversité	gaz effet serre	pollution eau	S _R
Biomasse CFE_sir	*			*	*	*			2
Activité microbienne-BR SIR	*			*			*		2
Emission CH ₄							*		1
Minéralisation nette N (incubation aérobie)			*				*	*	2
Nitrification (incubation aérobie)			*				*	*	2
Dénitrification (acétylène inhibition)			*				*		1
Activités enzymatiques	*		*				*	*	2
Indices écophysio- logiques	*								1
Diversité structurelle- DGGE/TGGE	*	*	*	*		*	*	*	2
Diversité structurelle-PLFA	*		*			*			2
Diversité fonctionnelle- CLPP	*	*	*			*			2
Diversité microfaune	*		*			*			2
Diversité mésofaune				*		*			1
Diversité macrofaune		*		*	*	*			2

Tableau 8.2. Participation de chaque indicateur biologique à différents processus intervenant dans les services écosystémiques du sol afin d'estimer la pertinence des indicateurs, S_{SA}= score pour les services écosystémiques de support et d'approvisionnement ; S_R= score pour le service écosystémique de régulation.

Le tableau 8.3. reprend les scores attribués à chaque critère ainsi que le calcul du facteur de score total en utilisant les formulations suivantes :

$$F_p = S_{SA} \times S_R$$

Où F_p = facteur de pertinence ; S_{SA} = score pour les services écosystémiques de support et d’approvisionnement ;

S_R = score pour le service écosystémique de régulation

$$F_{AD} = S_A \times S_D \times F_p$$

Où F_{AD} = facteur d’applicabilité et de discrimination ; S_A = score pour l’applicabilité, S_D = score pour la discrimination ; F_p = facteur de pertinence

$$F_{CM} = \sum (S_{cmi} \times W_{cmi}) + \dots + (S_{cmn} \times W_{cmn})$$

Où F_{CM} = facteur de critère méthodologique, S_{cmi} = score du critère méthodologique i, W_{cmi} = poids du critère méthodologique i, n=nombre de critères méthodologique

$$F_{ST} = F_{AD} \times F_{CM}$$

avec F_{ST} = facteur de score total.

Indicateur	S_{SA}	S_R	F_p	S_A	S_D	F_{AD}	$S_{CM-temps}$	$S_{CM-mat\u00e9riel}$	$S_{CM-expertise}$	$S_{CM-stockage}$	$S_{CM-facilit\u00e9}$	$S_{CM-valeur\ litt.}$	$S_{CM-programme}$	S_{CM-iso}	$S_{CM-reproductibilit\u00e9}$	F_{CM}	F_{ST}
Biomasse C-CFE	2	2	4	2	2	16	1	0	1	2	1	2	2	1	2	32	512
Biomasse C-SIR	2	2	4	1	2	8	2	0	1	1	1	1	2	1	1	26	208
Respiration basale-titration	2	2	4	2	2	16	2	2	1	2	2	2	2	1	2	39	624
Respiration basale -GC	2	2	4	2	2	16	2	0	2	2	1	1	2	0	2	34	544
Activit\u00e9 microbienne-SIR	2	2	4	2	1	8	2	0	1	1	1	1	2	1	1	26	208
Emission CH_4	1	1	1	1	0	0	1	0	1	nd	1	0	0	0	1	9	0
Min\u00e9ralisation nette N (incubation a\u00e9robie)	2	2	4	2	2	16	1	2	1	1	2	2	2	1	2	33	528
Nitrification (incubation a\u00e9robie)	1	2	2	2	1	4	1	2	1	1	2	1	0	1	1	23	92
D\u00e9nitrification (ac\u00e9tyl\u00e8ne inibition)	1	1	1	2	1	2	2	0	1	2	1	1	1	0	1	25	50
Activit\u00e9s enzymatiques	2	2	4	2	2	16	2	2	1	1	2	2	1	0	0	24	384
Indices \u00e9cophysiologiques	1	1	1	2	2	4	2	0	1	2	2	2	1	0	2	33	132
Diversit\u00e9 structurelle-DGGE/TGGE	2	2	4	2	2	16	1	0	0	2	0	1	1	0	1	17	272
Diversit\u00e9 structurelle-PLFA	2	2	4	2	2	16	1	0	0	2	1	1	1	1	1	21	336
Diversit\u00e9 fonctionnelle-CLPP	2	2	4	2	2	16	1	1	1	1	2	1	1	0	2	26	416
Diversit\u00e9 microfaune	2	2	4	2	1	8	0	1	0	1	1	0	1	1	0	10	80
Diversit\u00e9 m\u00e9sofaune	1	1	1	2	2	4	0	1	0	0	1	0	1	1	0	8	32
Diversit\u00e9 macrofaune	2	2	4	2	2	16	1	1	1	0	1	1	1	1	1	17	272

Tableau 8.3. Scores pour les services \u00e9cosyst\u00e9miques de support et d’approvisionnement (S_{SA}), pour le service \u00e9cosyst\u00e9mique de r\u00e9gulation (S_R), facteur de pertinence (F_p), score pour l’applicabilit\u00e9 (S_A) et pour la discrimination(S_D), facteur d’applicabilit\u00e9 et de discrimination (F_{AD}); score du crit\u00e8re m\u00e9thodologique (S_{cm}), facteur de crit\u00e8re m\u00e9thodologique (F_{CM}), facteur de score total (F_{ST}) pour chacun des indicateurs biologiques.

La **biomasse microbienne** pr\u00e9sente un facteur de score total \u00e9lev\u00e9 (208 et 512 pour la m\u00e9thode de respiration induite et de CFE, respectivement). Dans notre relev\u00e9 de litt\u00e9rature, la CFE est la m\u00e9thode la plus utilis\u00e9e pour estimer la biomasse microbienne. Cette m\u00e9thode pr\u00e9sente d’ailleurs un facteur de score total \u00e9lev\u00e9 (512). Cela peut s’expliquer par la bonne applicabilit\u00e9 et la pertinence de cet indicateur, qui est tr\u00e8s sensible aux perturbations d’origine anthropique et qui r\u00e9agit plus rapidement aux perturbations anthropiques que la teneur en carbone organique totale. Cette m\u00e9thode pr\u00e9sente de nombreux avantages pratiques. En effet, elle est reproductible, utilisable \u00e0 la fois dans les sols naturels ou perturb\u00e9s et elle permet l’analyse d’un grand

nombre d'échantillons dans un laps de temps relativement court. Une norme ISO existe (ISO 14240-2) et de nombreuses données existent dans la littérature. De plus, cet indicateur est employé dans de nombreux programmes de suivi des sols (Pays-Bas, Suisse, Allemagne, Italie, république Tchèque, Angleterre). La respiration induite peut également être employée pour estimer la biomasse microbienne mais elle présente un facteur de score total plus faible (208) en raison de ses limites d'applicabilité (sols de pH inférieur à 6.5, absence de facteur de conversion), de sa moins bonne reproductibilité et du stockage limité des échantillons. De plus, elle est moins fréquemment employée dans la littérature. La biomasse microbienne mesurée par CFE apparaît donc comme une mesure pertinente comme indicateur biologique de la qualité des sols.

Pour étudier les activités liées au cycle du carbone, on peut estimer la respiration du sol (basale ou induite) ainsi que l'émission de méthane. La **respiration basale**, reflétant le turnover de carbone peut être employée comme indicateur de la qualité du sol. Elle présente le facteur de score total le plus élevé (624) si l'on utilise la titration pour doser la quantité de CO₂ produit. Les analyses statiques de respiration basale présentent de nombreux avantages d'un point de vue pratique. Elles peuvent être réalisées en routine, sont reproductibles, requièrent un laps de temps court (plus de 100 échantillons/semaines) et ne nécessitent aucun appareillage spécifique (titration). De plus, le stockage des échantillons 4°C jusqu'à 8 semaines n'affecte pas les mesures. La mesure de la respiration basale est recommandée dans différents programmes de suivi des sols (Allemagne, Angleterre, Suisse, Suède, République Tchèque, Estonie, Finlande, Italie, Russie). Une norme ISO existe d'ailleurs pour estimer la respiration microbienne des sols en laboratoire (ISO 16072 (2002)). On peut aussi doser le CO₂ produit à l'aide d'appareillage spécifique (chromatographie gazeuse ou spectométrie IR). L'utilisation d'une chromatographie gazeuse nécessite un certain savoir faire qui diminue le F_{ST} (544 comparé à 624 pour la méthode par titration). Le coût de l'appareillage affecte également le F_{ST}. De plus, dans la littérature, peu de mesures sont réalisées avec de tels appareils. En effet, la méthode par titration est généralement privilégiée. La **respiration induite** utilisée pour estimer l'activité microbienne affiche un facteur de score total inférieur (208) à celui affiché par la respiration basale. En effet, cette méthode est moins reproductible (3 mesures répétées sont nécessaires par échantillon, Howarth et Paul, 1994), moins sensible et moins utilisée dans la littérature que la respiration basale. De plus, un stockage à 4°C pendant 2 semaines induit des différences dans les mesures de respiration induite. L'**émission de méthane** présente le facteur de score total le plus faible (0). Cet indicateur est moins pertinent en terme de processus de l'écosystème que la respiration du sol, ne s'applique qu'à certains environnements et n'est pas sensible aux perturbations environnementales. En raison de sa faible sensibilité aux changements, de sa faible utilisation dans la littérature (peu de références, peu de comparaisons), de son absence dans les systèmes de suivi du sol à l'étranger, et de sa prépondérance limitée à certains écosystèmes, nous ne recommandons pas l'émission de méthane en tant qu'indicateur de la qualité biologique des sols. Pour ces diverses raisons, nous privilégions l'emploi de la respiration basale comme indicateur de la qualité du sol.

Pour étudier les activités liées au cycle de l'azote, on peut estimer la minéralisation nette de l'azote, la nitrification nette de l'azote et la dénitrification. La **minéralisation nette** de l'azote (incubation aérobie) présente un F_{ST} élevé (528). En effet, elle est associée à l'état de l'eau et de l'air ainsi qu'à la production primaire. De plus, elle présente de nombreux avantages méthodologiques tels son faible coût, sa bonne reproductibilité, sa facilité de mise en place (Hart *et al.*, 1994) et son emploi fréquent dans la littérature. Les incubations peuvent être menées à court (15j) et moyen terme (21j) sur un grand nombre d'échantillons. Cet indicateur fait d'ailleurs partie des programmes de suivi des sols en Autriche, au Pays-Bas, en France, en République Tchèque, en Nouvelle Zélande ainsi qu'en Suisse. Une norme ISO existe (ISO 14238:1997). La **nitrification** présente un F_{ST} de 92. Elle est moins fréquemment utilisée dans la littérature que la minéralisation nette et n'est employée dans aucun programme de suivi des sols. De plus, sa sensibilité est moindre vis-à-vis des perturbations environnementales que celle de la minéralisation nette de l'azote. La **dénitrification** étudiée par la méthode d'inhibition à l'acétylène présente certaines limitations. En effet, l'acétylène inhibe la réduction enzymatique du N₂O en N₂ mais également la nitrification dans les sols, ce qui peut aboutir à une sous-estimation de la dénitrification (McCarthy et Bremner, 1986). Son facteur de score total est faible (52) en raison de sa faible pertinence, de sa faible sensibilité aux perturbations d'origine anthropique et de sa faible reproductibilité. La dénitrification étant le processus du cycle de l'azote qui présente la plus grande variabilité spatiale et temporelle (Tiedje *et al.*, 1989), il est le plus difficilement interprétable que la minéralisation nette de l'azote et les résultats sont d'autant moins reproductibles. Les résultats sont d'autant plus difficiles à interpréter que les enzymes permettant la dénitrification sont synthétisés seulement en conditions anaérobies et ne sont pas fonctionnels en conditions aérobies, bien qu'ils persistent au sein de la communauté. Les bio-essais de dénitrification reflètent peut être plus d'anciennes situations d'anaérobiose que les conditions

actuelles (Winding *et al.*, 2005). La dénitrification est employée comme indicateur de la qualité du sol dans les programmes de suivi des sols en Hongrie et en Autriche mais il n'y a pas de norme ISO. Dans la littérature, peu de valeurs sont disponibles. Nous privilégions l'étude de la minéralisation nette de l'azote pour étudier les activités liées au cycle de l'azote dans le cadre de la qualité biologique des sols car cette approche nous renseigne également sur les processus de décomposition de la matière organique (processus d'ammonification).

En raison de leur implication dans les différents processus du sol, les **activités enzymatiques** sont de potentiels indicateurs de la qualité du sol. Elles possèdent de nombreux avantages d'un point de vue méthodologique tels la rapidité, la simplicité de mesure, la possibilité de réaliser de nombreux échantillons en routine, le faible coût et elle ne requiert pas l'utilisation de substances toxiques. Cependant, nous ne recommandons pas les activités enzymatiques comme indicateur biologique malgré leur bon facteur de score total (384). En effet, un bon nombre de limitations en enzymologie (cfr. §2.1.2.3) ne sont pas résolues, plus précisément en ce qui concerne l'interprétation et l'implication des mesures d'activités enzymatiques dans le fonctionnement du sol. De plus, aucune mesure ISO n'existe et dans la littérature, une grande variété de protocoles existe (température, substrat et conditions d'incubation diverses). La reproductibilité de ces mesures est d'ailleurs sujet à controverse. Ces mesures sont toutefois recommandées comme indicateurs biologiques de la qualité du sol en Allemagne, en République Tchèque ainsi qu'en Autriche et en Hongrie mais pas en Angleterre, ni au Pays-Bas.

Bien que ne présentant pas un facteur de score très élevé (132), nous recommandons l'utilisation des **indices écophysologiques (q_{mic} , q_{CO_2})** comme indicateurs de la qualité du sol. En effet, ces mesures permettent des comparaisons entre sites différant dans leur teneur en carbone organique et parce qu'ils sont reproductibles. Nous privilégions l'emploi de la combinaison de ces indicateurs qui nous permettent alors d'avoir des informations sur le profil écophysologique d'un site c'est-à-dire la disponibilité en carbone et l'efficacité de son utilisation. De plus, dans un programme de suivi des sols où la biomasse et la respiration basale sont utilisées comme indicateur de la qualité biologique, ces indices peuvent être calculés sans qu'aucunes manipulations supplémentaires ne soient requises.

L'étude de la **diversité structurale** (DGGE/TGGE ou PLFA) affiche un facteur de score moyen (272 ou 336, respectivement). L'étude de la diversité structurale par DGGE/TGGE possède une bonne pertinence et une bonne applicabilité mais certains critères méthodologiques font défaut. En effet, cette technique requiert un matériel spécifique (PCR, appareil DGGE ou TGGE) et une expertise particulière, elle n'est pas aisée à mettre en place de façon routinière et présente une reproductibilité modérée. La méthode des PLFA est plus aisée à mettre en place que la méthode par DGGE pour analyser des échantillons de façon routinière, ce qui explique son meilleur F_{ST} . Cette méthode a été recommandée comme indicateur de suivi des sols en Ecosse et en Irlande (Chapmann *et al.*, 2000) et une norme ISO (ISO/DTS 29843-2) existe pour l'extraction simple. Cependant, en raison des nombreuses contraintes inhérentes à ces techniques (§8.2.1.4.1) et du temps nécessaire à la réalisation de ces analyses moléculaires ou biochimiques, rendant leur utilisation en routine délicate, nous ne recommandons pas la diversité microbienne comme indicateur de la qualité biologique. De plus, leur interprétation en terme de qualité du sol est assez aléatoire car le lien entre la diversité et la fonction est encore mal établi. En effet, le bénéfice d'une diversité importante est toujours débattu (Griffiths *et al.*, 2001). Le lien entre la diversité, la fonction et la qualité du sol n'est à ce jour pas complètement élucidé (Nielsen *et al.*, 2002).

L'étude de la **diversité fonctionnelle** affiche un facteur de score total supérieur (416) à celui de la diversité structurale. Cela s'explique par le fait que ces analyses nécessitent un moins grand savoir faire, sont plus reproductibles et plus aisées à développer en routine. L'étude de la diversité fonctionnelle (CLPP) fait partie du programme de monitoring des sols en Allemagne et est recommandé pour le suivi des sols en Angleterre et en Irlande (Nielsen *et al.*, 2002). Comme la diversité fonctionnelle est d'un point de vue écologique ainsi qu'en terme de qualité du sol, plus pertinente que la diversité génétique, nous recommandons l'étude de la diversité fonctionnelle en tant qu'indicateur de la qualité des sols. En raison de sa bonne reproductibilité ainsi que de sa possible utilisation en routine, nous recommandons la technique des CLPP avec les Ecoplates. Il faut cependant remarquer que le CLPP n'est pas un indicateur autonome mais est complémentaire à d'autres indicateurs.

Bien que l'étude des **protozoaires** et des **nématodes** ne requiert aucun matériel coûteux et que ces organismes soient utilisés comme indicateur de la qualité du sol en Autriche et aux Pays-Bas, nous ne recommandons pas l'utilisation de ces organismes car nous pensons que leur utilisation en routine est coûteuse en temps et assez

ardue. En effet, leur faible F_{ST} (80) peut s'expliquer par les longues observations au microscope requises pour leur identification (coût de temps), par la nécessité de posséder une bonne connaissance taxonomique (qui se fait rare en raison de l'absence de spécialistes), et par leur grande diversité spatiale pouvant affecter la reproductibilité des mesures. De plus, ces organismes sont peu sensibles aux pratiques de gestion agricole. Le coût et le temps nécessaire à l'analyse d'un grand nombre d'échantillon est reconnu prohibitif (Qui *et al.*, 2006). Une norme ISO existe pour le prélèvement et l'identification des nématodes (ISO 23611-4 :2007).

La **diversité de la mésofaune** en tant qu'indicateur de la qualité du sol affiche un facteur de score total faible (32). Cela peut s'expliquer par la faible pertinence de ces organismes et par le fait que le stockage des échantillons est impossible (Edwards et Fletcher, 1971). En raison de leur grande variabilité spatiale et temporelle, l'étude de la diversité est peu reproductible. L'utilisation de la diversité des microarthropodes en tant qu'indicateur de la qualité du sol peut-être envisagée avec l'emploi de l'indicateur BSQ ne requérant pas de connaissances taxonomiques approfondies. Cependant, les observations sont assez longues en temps et ne sont pas opérationnelles pour observer en routine un grand nombre d'échantillons. Une norme existe pour le prélèvement des collemboles (ISO 23611-2 :2006) et enchytréides (ISO 23611-3 :2007).

L'étude de la **diversité de la macrofaune** présente un facteur de score total moyen (272). Les vers de terre sont en effet plus faciles à étudier que la méso- ou la microfaune, ils participent à de nombreux processus (pertinence supérieure). De plus, étudier leur nombre et leur biomasse est suffisant et ne requiert aucune expertise spécifique. Ces analyses sont plus reproductibles que celles concernant la diversité de la micro- et mésofaune.

Suite à notre relevé de littérature et en raison de leurs caractéristiques méthodologiques (bonne reproductibilité, utilisable en routine, ...) ainsi que de leurs implications dans les différents services écosystémiques, les indicateurs biologiques que nous préconisons sont **la biomasse microbienne, la respiration basale, les indices écophysologiques, la minéralisation nette de l'azote, la diversité fonctionnelle des bactéries (Biolog-CLPP) ainsi que l'abondance et la biomasse des vers de terre**. Ces différents indicateurs interviennent dans les services écosystémiques d'approvisionnement, de support et de régulation. Plus précisément, la biomasse microbienne intervient dans la décomposition de la matière organique, le cycle des éléments nutritifs, la solubilisation de minéraux et la structure du sol (services de support). Elle intervient également dans les services d'approvisionnement via son implication dans la production primaire mais aussi dans les services de régulation via son rôle dans la détoxification des sols (dégradations de substances xénobiotiques) ou via son rôle antagonistes vis-à-vis des organismes pathogènes. En tant qu'activité microbienne liée au cycle du carbone, la respiration basale est un indicateur des services d'approvisionnement représentatif de la production primaire, des services de support car elle reflète le cycles des éléments nutritifs. La minéralisation de l'azote est représentative des services de support via la décomposition de la matière organique, le cycle des éléments nutritifs mais aussi des services de régulation via son implication dans la production de nitrates et de protoxyde d'azote influençant, respectivement, la qualité de l'eau et de l'air. La diversité fonctionnelle et les indices écophysologiques sont indicateurs des services de support et d'approvisionnement via les informations qu'ils peuvent fournir concernant le cycle des éléments nutritifs et la décomposition de la matière organique. L'abondance et la diversité des vers de terres sont indicatrices des services de support via leur influence sur le cycle des éléments nutritifs, sur la décomposition de la matière organique mais aussi des services de régulation via leur influence sur la structure du sol pouvant affecter l'infiltration des eaux. La biomasse microbienne ainsi que la respiration basale sont utilisées/suggérées dans tous les programmes de suivi étudiés (Pays Bas, France, Suisse, Angleterre, Italie, Allemagne, Hongrie, Autriche, Tchéquie (Cfr. chapitre 6, Winding *et al.*, 2002)). L'emploi de la biomasse microbienne et de la respiration basale comme indicateur de la qualité biologique des sols en Wallonie nous semble justifié par leur large acceptation dans les différents pays, la présence d'une méthode standardisée, leur coût faible, leur bonne reproductibilité ainsi que leur utilisation possible en routine. Le calcul des indices écophysologiques en découlant nous semble aussi intéressant car il ne requiert aucune manipulation supplémentaire aux précédentes. Ces indicateurs ont d'ailleurs été recommandés par le groupe de travail sur la « biodiversité des sols » (Van Camp *et al.*, 2004). La minéralisation de l'azote est utilisée/suggérée comme indicateur de la qualité des sols dans la majorité des programmes de suivi étudiés excepté en Angleterre, en Italie et en Tchéquie. D'autres pays s'intéressent au cycle de l'azote mais en étudiant la dénitrification (Hongrie et Autriche) mais l'emploi de cet indicateur ne nous semble pas pertinent. Etudier la minéralisation de l'azote comme indicateur de la qualité des sols en Wallonie nous semble justifié bien que cette mesure soit moins souvent préconisée dans les autres états Membres que la respiration basale et la biomasse microbienne. En effet, le cycle de

l'azote est un cycle biogéochimique essentiel, en interrelation avec le cycle du carbone, et la minéralisation de l'azote joue un rôle prépondérant dans les services écosystémiques de régulation. De plus, son coût, son utilisation possible en routine ainsi que l'existence d'une méthode standardisée sont autant de facteurs permettant de prendre en compte cet indicateur en considération. Le groupe de travail sur la « biodiversité des sols » (Van Camp *et al.*, 2004) souligne l'importance d'étudier la diversité des micro-organismes. Cependant, pour les raisons décrites ci-dessus, nous préconisons l'étude de la diversité fonctionnelle plutôt que celle de la diversité génétique. L'analyse de la diversité métabolique (Biolog) est aisée, peut être utilisée en routine et est utilisée dans la majorité des programmes de suivi des sols (pas en Suisse, Hongrie et Tchéquie). Lorsque l'on consulte le relevé de l'existant concernant les outils d'évaluation de la qualité biologique des sols dans les pays/régions voisins (chapitre 6), certains pays (Pays Bas, France, Angleterre) préconisent l'emploi de méthodes moléculaires pour étudier la diversité génétique et/ou structurelle des micro-organismes du sol. Nous ne recommandons pas l'emploi de ce type d'indicateurs pour différentes raisons. Tout d'abord, ces méthodes ne sont pas quantitatives. De plus, en raison de notre propre expérience et des données issues de la littérature, nous savons que chacune des techniques employées doit être optimisées (extraction, amplification par PCR, méthodes employées pour créer le profil génétique de la communauté) selon la nature de l'échantillon afin d'être reproductible et représentative. En effet, une technique mise au point pour un sol sableux ne peut pas être employée telle quelle sur un sol argileux. L'optimisation de ces méthodes moléculaires peut prendre un certain laps de temps (jusqu'à plusieurs mois) et est assez onéreuse en raison du coût des produits de biologie moléculaire. En Hongrie, en Tchéquie, en Autriche, en France et en Angleterre, l'étude de l'activité enzymatique des sols est recommandée comme indicateur de la qualité des sols. Nous ne préconisons pas l'emploi d'un tel indicateur car au cours de nos diverses lectures, il nous est apparu que certaines difficultés inhérentes à l'enzymologie n'ont pas encore été élucidées. De plus, diverses méthodes pour quantifier l'activité d'une seule enzyme ont été employées (chapitre 8).

L'union européenne recommande d'intégrer des paramètres faunistiques dont l'étude de régulateurs biologiques (nématodes ou collemboles) et d'ingénieurs de l'écosystème (vers de terre). Bien que nous reconnaissons l'importance de ces organismes dans les processus du sol, le temps nécessaire à l'analyse de nombreux échantillons, nous incite à proposer un set minimum d'indicateurs principalement basé sur les micro-organismes. Du point de vue faunistique, nous proposons d'estimer la biomasse et le nombre de vers de terre présent dans les sols. Par la suite, lorsque une base de données concernant les paramètres microbiologiques et ces indices faunistiques aura été développée et si les moyens le permettent ce set d'indicateurs minimum pourra être complété par l'étude de la diversité globale de la faune des sols (diversité taxonomique). Il faut se rendre compte qu'actuellement seul les Pays-Bas, très avancé dans le domaine, ont un suivi national des sols au niveau des paramètres microbiens et faunistiques.

Notre relevé de littérature sur les indicateurs biologiques ne nous a pas fourni de données caractéristiques pour les sols de la Région wallonne. Des données publiées dans d'autres contextes sont sans doute disponibles, mais une recherche bibliographique ciblée différemment serait nécessaire afin d'en établir l'inventaire. Par exemple, concernant les processus microbiens et la biomasse microbienne, nous disposons de données pour trois forêts wallonnes (Malchair et Carnol, 2009). De plus, il est possible que, certaines données non publiées soient disponibles au sein des différentes unités de recherche des Universités wallonnes, qu'il faudrait contacter individuellement. Cependant, notons que dans le cadre d'un réseau, la comparabilité des mesures (souvent effectuées avec des techniques différentes) est essentielle et rassembler des mesures réalisées dans différentes conditions et contextes ne semble évidemment pas souhaitable.

8.2. Fiche descriptive des indicateurs pré-sélectionnés

8.2.1. Fiche descriptive 1 : la biomasse microbienne

8.2.1.1. Définition

La biomasse microbienne est la composante vivante de la matière organique du sol (Jenkinson et Ladd, 1981) à l'exclusion des racines et de la macrofaune.

8.2.1.2. Méthodes pour estimer la biomasse microbienne

- Comptage cellulaire
- Fumigation au chloroforme-extraction
- Fumigation au chloroforme –incubation
- Respiration induite
- Dosage de marqueurs moléculaires tels l'adénosine tri-phosphate (ATP), les composants cellulaires membranaires (PLFA-phospholipid fatty acid),
- Extraction d'acide nucléique.

La méthode privilégiée pour l'estimation de la biomasse microbienne est la **fumigation au chloroforme suivie d'une extraction** selon le protocole de Vance *et al.* (1987). Cette technique estime la biomasse microbienne, vivante ou morte. Les vapeurs de chloroforme induisent la lyse cellulaire et le carbone contenu dans le sol est estimé avant et après fumigation dans une solution de K_2SO_4 0.5 M. La norme ISO 14240-2 (1997) décrit la mesure de la biomasse microbienne par fumigation extraction au chloroforme. Cette norme est applicable aux sols aérobies et anaérobies (saturés, irrigués) dans toute la gamme de pH des sols. Applicable aussi dans des sols contenant des substrats en décomposition active.

8.2.1.3. Conservation des échantillons

La conservation des échantillons à 4°C maximum 8 semaines n'induit pas de changement dans l'estimation de la biomasse microbienne (Černohlávková *et al.*, 2009) par CFE.

8.2.1.4. Estimation de la biomasse microbienne par fumigation-extraction au chloroforme

8.2.1.4.1. Matériel

Un incubateur ou une pièce thermorégulée

Une balance

Un dessiccateur

Une pompe à vide

Un agitateur rotatif

Filtre Whatman 42

Des erlenmeyers, berlins

Du chloroforme sans éthanol

Des pierres catalytiques

Du K_2SO_4 0.5M

Un analyseur de carbone organique total (TOC)

8.2.1.4.2. Méthode et analyse des échantillons

Un échantillon de 50g de sol est divisé en deux sous-échantillons. Le premier est mis en suspension (agitation 30 minutes à 200 tours par minute) dans une solution K_2SO_4 0.5M (w : v : 1 : 4). Cette suspension est ensuite filtrée. L'autre sous-échantillon est placé dans le dessiccateur en présence d'un papier humide, d'un berlin contenant du chloroforme sans éthanol ainsi que des pierres catalytiques. Le vide est alors réalisé dans le dessiccateur, induisant l'ébullition du chloroforme. Le dessiccateur est alors placé 24h, à l'obscurité et à 25°C. Après la fumigation, le chloroforme est évacué du dessiccateur en réalisant le vide (6 à 8 fois) après avoir retiré le chloroforme et le papier humide. Le sol est ensuite extrait au K_2SO_4 0.5 M selon le protocole décrit pour les échantillons non fumigés.

Le carbone extrait peut être dosé par oxydation par les UV en présence de persulphate (TOC analyseur) ou par oxydation du dichromate (titration). Le carbone organique total, l'azote total, l'ammonium peuvent être dosés dans le même extrait de sol au K_2SO_4 . Lors du dégel des échantillons conservés avant analyse à -20°C, un précipité blanc de Ca_2SO_4 peut apparaître dans les extraits de sols ayant un pH neutre ou alcalins. Cela ne cause aucun problème dans les analyses et peut donc être ignoré.

8.2.1.5. Caractéristique de l'indicateur

La biomasse microbienne est un indicateur quantitatif et de nombreuses valeurs existent dans la littérature. Vu son implication dans de nombreux processus assurant les services écosystémiques de régulation et de support, il présente une grande pertinence pour le fonctionnement du milieu

8.2.1.6. Utilisation et sensibilité

La biomasse microbienne peut être employée comme indicateur de changement dans les processus du sol car elle présente un turnover plus rapide (0.2-6ans) que la matière organique total du sol (>20ans) (Jenkinson et Ladd, 1981).

Elle est employée dans :

- l'étude de mesures de gestion forestière et agricole
- la comparaison de sols à l'état naturel par rapport aux sols cultivés
- le suivi des techniques de restauration du sol, de remédiation

8.2.1.7. Type de sol

Sols agricoles, forestiers et urbains

Sols présentant différentes textures : sableuse, argileuse ou limoneuse.

Sols de pH 3 à pH 8

8.2.2. Fiche descriptive 2 : la respiration du sol

8.2.2. 1. Définition

La respiration du sol est, au sens strict, la production de CO₂ par les organismes du sol ainsi que par les parties souterraines des plantes. Cette mesure reflète l'activité des micro-organismes, c'est-à-dire leur capacité à minéraliser les substances organiques.

8.2.2. 2. Méthodes pour estimer la respiration du sol

- la respiration basale
- la respiration induite

La méthode privilégiée pour l'estimation de l'activité microbienne liée au cycle du carbone est la respiration basale. Cette méthode détermine la quantité de CO₂ produite par absorption sur un alcali suivi d'une analyse par titration. La norme ISO 16072 (2002) décrit la mesure de la respiration microbienne du sol en laboratoire.

8.2.2. 3. Récolte des échantillons et conservation

La conservation des échantillons à 4°C pendant maximum 8 semaines n'induit pas de changement dans l'estimation de l'activité microbienne (Černohlávková *et al.*, 2009).

8.2.2. 4. Estimation de respiration basale (titration)

8.2.2.4.1. Matériel

Un incubateur ou une pièce thermorégulée

De la verrerie (500 ml) avec une large ouverture (type bocal de stérilisation pour la nourriture)

Un récipient pour contenir le sol qui entre dans le bocal de stérilisation et un autre (fiole à scintillation) pour contenir le NaOH

Une burette

Un agitateur magnétique et une puce magnétique

Un pH mètre

Des erlenmeyers, berlins

Du NaOH (0.1 ou 1M)

Du HCl dilué (0.05M)

Du BaCl₂ (0.05M)

Solution de phénophtaléine (0.1g/100ml 60% (v/v) éthanol)

8.2.2.4.2. Méthode et analyse des échantillons

Un échantillon de 40g de sol présentant une capacité de rétention en eau de 50-70% ainsi qu'une fiole à scintillation contenant 2 ml de NaOH 0.1M sont placés dans un bocal scellé hermétiquement et incubés pendant 24H à une température donnée. A la fin de l'incubation, la fiole contenant le NaOH est retirée du bocal et le NaOH est placé dans un erlenmeyer. On ajoute à celui-ci 4 ml de BaCl₂ 0.05M pour précipiter le carbonate en BaCO₃ et quelques gouttes de phénophtaléine. La solution est ensuite titrée avec du HCl 0.05M jusqu'à ce que l'indicateur coloré vire. Si l'incubation doit se prolonger, remplacer une nouvelle fiole à scintillation dans le bocal en présence du sol et répéter les étapes décrites ci-dessus. On exprime la respiration en terme de quantité de CO₂ émis par unité de temps et par gramme de sol.

Une période de préincubation permettant l'équilibration du sol est recommandée si la teneur en eau du sol a été ajustée.

8.2.2.5. Caractéristique de l'indicateur

La respiration basale est un indicateur quantitatif et de nombreuses valeurs existent dans la littérature. Vu son implication dans de nombreux processus assurant les services écosystémiques de régulation et de support, il présente une grande pertinence pour le fonctionnement du milieu

8.2.2.6. Utilisation et sensibilité

La respiration du sol peut être employée comme indicateur de la qualité du sol car elle fournit des informations sur le turnover et la dynamique du carbone.

Elle est employée dans :

- l'étude de mesures de gestion forestière et agricole
- la comparaison de sols à l'état naturel par rapport aux sols cultivés
- l'étude de l'effet de l'occupation des sols
- l'étude de la pollution (par les métaux lourds) des sols

Elle présente une sensibilité faible vis-à-vis de la pollution aux PAH

8.2.2.7. Type de sol :

Sols agricoles, forestiers et urbains

Sols présentant différentes textures : sableuse, argileuse ou limoneuse.

Sols de pH 2.6 à pH 8.5

8.2.3. Fiche descriptive 3 : la minéralisation nette de l'azote

8.2.3.1. Définition

La minéralisation de l'azote peut être employée comme indicateur biologique car c'est une mesure intégrant les facteurs climatiques ainsi que les facteurs chimiques, physiques et biologique (fertilité) du sol (§7.2.1.2.2.).

8.2.3.2. Méthodes statiques pour estimer la minéralisation nette de l'azote

- l'incubation à court terme aérobie
- l'incubation à court terme anaérobie

La méthode privilégiée pour estimer la minéralisation nette de l'azote est la méthode d'incubation à court terme en condition aérobie. Cette méthode détermine la quantité d'azote minéral produit au cours de l'incubation. La norme ISO 14238 (1997) décrit les procédures de laboratoire pour estimer la minéralisation nette de l'azote en laboratoire.

8.2.3.3. Récolte des échantillons et conservation

La durée de conservation des échantillons doit être la plus courte possible. La conservation des échantillons à 4°C pendant maximum 2 semaines n'induit pas de changement dans la détermination de la minéralisation nette de l'azote (Černohlávková *et al.*, 2009).

8.2.3.4. Estimation de la minéralisation nette de l'azote par incubation aérobie courte

8.2.3.4.1. Matériel

Un incubateur ou une pièce thermorégulée
Des erlenmeyers (100 ml)
Du parafilm (épaisseur maximum 40 µm)
Du KCl (1M)
Les réactifs nécessaires à l'analyse des teneurs en ammonium et nitrates
Un colorimètre ou un autoanalyseur

8.2.3.4.2. Méthode et analyse des échantillons

Pour chaque échantillon, deux sous échantillons (équivalent 10 g de sols sec) sont pesés dans les erlenmeyers. Un des sous échantillons est directement extraits avec du KCl 1M (1 :4 ; w :v). L'autre sous échantillon est fermé avec le parafilm et incubé pendant 15j à une température donnée. Il est recommandé de peser l'erlenmeyer contenant le sol avant le début de l'incubation. En effet, chaque semaine, le contenu en eau du sol doit être ajusté si la perte d'eau est supérieure à 10%.

8.2.3.5. Caractéristiques de l'indicateur

La minéralisation nette de l'azote est un indicateur quantitatif et de nombreuses valeurs existent dans la littérature. Vu son rôle majeur dans l'approvisionnement des plantes en éléments nutritifs, de son possible impact sur la qualité de l'eau (lessivage nitrates) et de l'air (émission de protoxyde d'azote), il présente une grande pertinence pour le fonctionnement des écosystèmes.

8.2.3.6. Utilisation

La minéralisation nette de l'azote peut être employée comme indicateur de la qualité du sol car elle fournit des informations sur le turnover de l'azote.

Elle est employée dans :

- l'étude de mesures de gestion forestière et agricole
- la comparaison de sols à l'état naturel par rapport aux sols cultivés
- l'étude de l'effet de l'occupation des sols
- l'étude de la pollution (par les métaux lourds,) des sols

8.2.3.7. Type de sol

Sols agricoles, forestiers et urbains
Sols présentant différentes textures : sableuse, argileuse ou limoneuse.
Sols de pH 3 à pH 7.9

8.2.4. Fiche descriptive 4 : la diversité fonctionnelle

8.2.4.1. Définition

La diversité fonctionnelle peut être définie comme le nombre, le type de substrats utilisables par la communauté bactérienne et la vitesse à laquelle ces substrats sont utilisés

8.2.4.2. Méthodes estimer la diversité fonctionnelle

- profils physiologiques (Community-Level-Physiological-Profiling ou **CLPP**) au niveau de la communauté en utilisant les profils d'utilisation de source unique de carbone

- l'étude de la diversité des ARNm (acides ribonucléiques messagers)

La méthode privilégiée pour estimer la diversité fonctionnelle est la CLPP (Biolog).

8.2.4.3. Récolte des échantillons et conservation

La durée de conservation des échantillons doit être la plus courte possible. La conservation des échantillons à 4°C pendant maximum 10 jours n'induit pas de changement dans la détermination de diversité métabolique par CLPP (Rutgers *et al.*, 2006).

8.2.4.4. Estimation de la diversité métabolique (biolog)

8.2.4.4.1. Matériel

Un incubateur ou une pièce thermorégulée

Des écoplaques (Biolog EcoMicroPlate™)

Des tubes à centrifuger

Une centrifugeuse

Un agitateur rotatif

Du NaCl (0.85%) ou du cholate de sodium (0.1%)

Un lecteur de plaque (590 nm)

8.2.4.4.2. Méthode et analyse des échantillons

Mettre 5g de sol en suspension dans du NaCl (0.85%) ou un détergent ionique (cholate de sodium ($C_{24}H_{39}NaO_5 \cdot xH_2O$), 0.1%). Pour récupérer le surnageant contenant les micro-organismes du sol, et servant d'inoculum pour les écoplaques, on agite et centrifuge cette suspension. Afin d'éliminer l'influence de la densité de l'inoculum, il est recommandé d'utiliser plusieurs plaques par échantillons afin de pouvoir inoculer des dilutions sériées de l'extrait (10^{-1} à 10^{-11}). Ces plaques sont ensuite incubées à une température déterminée pendant 5 à 7 jours. Chaque jour, l'absorbance à 590 nm est mesurée pour chacun des puits de la microplaque.

8.2.4.5. Caractéristiques de l'indicateur

La diversité fonctionnelle est un indicateur qualitatif fournissant des informations sur le profil métabolique de la communauté microbienne et de nombreuses valeurs existent dans la littérature. Cette méthode, procurant des informations sur les fonctions métaboliques du sol dans son ensemble, présente une grande pertinence pour le fonctionnement des écosystèmes.

8.2.4.6. Utilisation et sensibilité

La diversité fonctionnelle peut être employée comme indicateur de la qualité du sol car elle fournit des informations sur les capacités métaboliques de la communauté microbienne.

Elle est employée dans :

- l'étude de mesures de gestion forestière et agricole
- la comparaison de sols à l'état naturel par rapport aux sols cultivés
- l'étude de l'effet de l'occupation des sols
- l'étude de la pollution des sols

8.2.4.7. Type de sol

Sols agricoles, forestiers et urbains

Sols présentant différentes textures : sableuse, argileuse ou limoneuse.

Sols de pH 3 à pH 7.2

8.2.5. Fiche descriptive 5 : la biomasse et l'abondance des vers de terre

8.2.5.1. Définition

Annélides oligochètes terricoles jouant un rôle primordial dans l'écologie des sols. Ils interviennent de façon essentielle dans la transformation des matières organiques végétales mortes en humus.

Estimer leur nombre ou biomasse des vers de terre est plus utile pour estimer la qualité du sol que d'étudier leur diversité taxonomique (Doubé et Schmidt, 1997).

8.2.5.2. Méthodes d'extraction des vers de terre

- échantillonnage manuel
- échantillonnage par expulsion électrique
- extraction chimique

La méthode privilégiée pour étudier le nombre ou l'abondance des vers de terre est la méthode d'échantillonnage à la main (ISO 23611 :1,2006).

8.2.5.3. Récolte des échantillons et conservation

La durée de conservation des échantillons doit être la plus courte possible. Le sol doit être transporté à 4°C afin de diminuer l'activité des vers de terre.

8.2.5.4. Estimation du nombre et de la biomasse par échantillonnage manuel

8.2.5.4.1. Matériel

Une pince à épiler
Des tubes pour stocker les vers de terre
Une balance
Un congélateur
Un four à moufle
Des creusets en porcelaine

8.2.5.4.2. Méthode et analyse des échantillons

Il faut extraire les vers de terre manuellement le plus rapidement possible. Après comptage et après avoir déterminé le poids frais des vers de terre, on peut congeler les vers de terre en vue de l'estimation du poids sec. Les vers de terre congelés sont placés dans des creusets en porcelaine et laissés 4h à 500°C afin d'estimer leur poids sec.

8.2.5.5. Caractère de l'indicateur

L'abondance et la biomasse des vers de terre sont des indicateurs quantitatifs qui fournissent des informations sur l'abondance et la biomasse des vers de terre. Vu l'implication des vers de terre dans la structure du sol (pouvant influencer l'infiltration de l'eau, la disponibilité des éléments nutritifs et la dégradation de la matière organique), estimer leur biomasse et leur abondance présente une grande pertinence pour le fonctionnement des écosystèmes.

8.2.5.6. Utilisation et sensibilité

L'abondance et la biomasse des vers de terre est employée dans :

- l'étude de mesures de gestion agricole
- l'étude de l'effet de l'occupation des sols
- l'étude de la pollution des sols
- l'étude de l'influence de diverses essences forestières

8.2.5.7. Type de sol

Sols agricoles, forestiers

Sols présentant différentes textures : sableuse, argileuse ou limoneuse.

Sols de pH 3.8 à pH 7.1

8.3. Considérations pratiques concernant l'échantillonnage, le stockage et le prétraitement des sols avant les analyses biologiques.

Les organismes du sol ainsi que les processus qu'ils régulent présentent une variabilité spatiale et une variabilité temporelle qui doivent être prises en compte lors de l'échantillonnage.

La **stratégie d'échantillonnage** inclut la sélection des sites d'échantillonnage, la méthode d'échantillonnage, le moment et la fréquence d'échantillonnage, la profondeur d'échantillonnage et le prétraitement des échantillons. Généralement, le plus grand challenge de la stratégie d'échantillonnage est de diminuer le nombre d'échantillons afin de réduire le coût des analyses mais tout en maintenant une résolution suffisante.

8.3.1. Sélection des sites d'études

Deux approches peuvent être considérées pour la sélection des sites d'étude : l'approche régionale et l'approche parcelle (Billet, 1996). L'approche régionale implique l'échantillonnage d'un grand nombre de sites présentant des différences pédogéochimiques, de structure et de texture, de caractéristique physico-chimiques du sol à l'échelle de la région. L'approche par parcelle (surface définie, échelle spatiale inférieure) est plus intensive et génère des données de plus grande valeur scientifique, particulièrement en ce qui concerne les relations écologiques entre les différents attributs du sol (Stenberg, 1999). En fonction du but du programme de suivi des sols, l'une ou l'autre approche sera privilégiée. En effet, si le but est d'accumuler des valeurs de références, l'approche régionale sera privilégiée. Si le but du programme est d'étudier l'effet de différentes pratiques agricoles/ forestières ou l'effet de certaines perturbations environnementales sur des processus microbiologiques, l'approche parcelle sera plus judicieuse.

8.3.2. Méthode d'échantillonnage

Diverses méthodes d'échantillonnage existent (Fig. 8.1. ; Wollum, 1994) :

L'échantillonnage systématique : les échantillons sont prélevés à intervalles réguliers, généralement le long de transect ou de grilles. Cette méthode veille à ce que l'ensemble du site échantillonné soit bien représenté par les échantillons individuels. Cette méthode est efficace pour établir la gamme de valeurs d'un indicateur et pour rendre compte de la variabilité spatiale de celui-ci, cependant le nombre important d'échantillons à prélever augmente le coût des analyses.

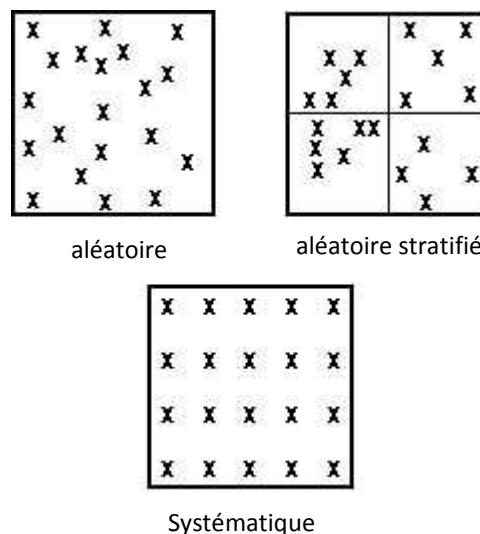


Figure 8.1. Méthodes d'échantillonnage

L'échantillonnage aléatoire simple : ce type d'échantillonnage sélectionne de façon aléatoire les points d'échantillonnage dans une grille. Des paires de nombres aléatoires sélectionnées à partir d'une table de nombres aléatoires sont utilisées pour sélectionner les points d'intersection qui seront des points d'échantillonnage. Cette procédure présente certains avantages : les points d'échantillonnage sont préétablis avant d'aller sur le terrain, l'échantillonnage est non biaisé. Cependant, cette méthode fournit des informations limitées concernant la variabilité spatiale de la variable mesurée et les zones moins représentatives sont généralement sous représentées (Stenberg, 1999).

L'échantillonnage aléatoire stratifié : la méthode d'échantillonnage est semblable à celle utilisée pour l'échantillonnage aléatoire simple mais en tenant compte des zones non représentatives. Pour cela, la zone d'étude est subdivisée en surfaces plus petites selon le type d'habitat/d'usage ou de caractéristiques physico-

chimiques et chacune de ces petites surfaces est échantillonnée par la méthode aléatoire simple. Cette technique permet aux scientifiques de considérer chaque surface séparément, ce qui augmente la précision de la mesure sur l'ensemble de la zone. Cependant, cette division en plus petites zones dépend de la délimitation des zones qui est basée sur le jugement du scientifique. Un moyen d'annihiler ce biais est de se baser sur des cartes pédologiques ou d'occupation des sols. Ce type d'échantillonnage est employé en Allemagne, en Suisse et en Angleterre (Winding *et al.*, 2005).

Afin de réduire les coûts ainsi que le nombre d'analyses à réaliser au laboratoire, on peut utiliser des échantillons composites. Les échantillons individuels prélevés sur site sont mélangés. Cela nécessite qu'un nombre égal ainsi qu'une quantité identique d'échantillons composent chacun des échantillons composites et qu'aucune interaction n'existe entre les échantillons. Ces échantillons composites ne rendent cependant pas compte de la variabilité spatiale (Stenberg, 1999).

8.3.3. Moment, fréquence et profondeur d'échantillonnage

Les organismes du sol présentent une certaine dynamique temporelle, c'est pourquoi il faut sélectionner le moment d'échantillonnage avec précaution. Il est préférable de réaliser l'échantillonnage lorsque le climat est stable et lorsque le sol n'a subi aucune perturbation récente (Dick *et al.*, 1996). Le début du printemps ou la fin de l'automne semblent être les périodes les plus appropriées (Stenberg, 1999) en Europe du nord. En effet, à ces périodes, les conditions du sol sont moyennes et stables, et l'effet de la végétation ne se fait pas encore ou plus sentir. De plus, l'humidité est moyenne (40-60% WHC) et le sol n'est plus ou pas encore gelé. Lors de ces périodes, les paramètres biologiques affichent des variations annuelles faibles (Pfiffner et Mäder, 1999).

La fréquence d'échantillonnage est conditionnée par le degré de variations du paramètre dans la zone d'étude, par le temps requis pour chaque analyse et également par les limitations financières. Les fréquences d'échantillonnage dans les programmes de suivis des sols existant dans différents pays européens varient de 1 à 10 ans (chapitre 7, Winding *et al.*, 2005).

La profondeur d'échantillonnage est aussi un facteur essentiel. Les horizons de surface contiennent plus d'organismes que les horizons plus profonds. Les caractéristiques physico-chimiques des différentes couches du sol expliquent cette répartition différentielle des organismes avec la profondeur. Il faut, cependant, remarquer que les sols agricoles ayant subi le labourage présentent une répartition plus homogène des organismes avec la profondeur du sol.

8.3.4. Prétraitement et stockage des échantillons

Le prétraitement des échantillons inclut l'emballage, le transport et le tamisage.

Les échantillons peuvent être transportés dans des sacs en plastique qui offrent l'avantage d'être perméable à l'oxygène et au dioxyde de carbone et d'empêcher la dessiccation des échantillons. Lors du transport, ces échantillons peuvent être stockés sur glace (Wollum, 1994).

Avant analyses, les échantillons sont tamisés afin d'éliminer les racines, les débris végétaux et les cailloux et homogénéisés. Des tamis dont la maille varie de 2 à 4 mm sont employés. Le tamisage à travers des mailles de 2 mm altère fortement l'agrégation du sol. Le maillage de 4 mm est préféré et employé dans différent programme de suivi des sols (Allemagne, Pays-Bas, Suisse, Angleterre) (Winding *et al.*, 2005).

Il est préférable d'analyser les échantillons du point de vue biologique dans les plus brefs délais. Cependant, lorsqu'un nombre important d'échantillons et de nombreuses analyses doivent être réalisés, le stockage des échantillons est nécessaire. Différentes manières de stocker les échantillons existent : séchage à température ambiante, stockage à 4°C (réfrigération), stockage à -20°C (congélation). Le séchage à l'air libre réduit le nombre de micro-organismes d'autant plus que le temps de stockage est long et cela affecte aussi la structure de la communauté microbienne. Le stockage des échantillons dans le réfrigérateur à 4°C semble être la meilleure façon de conserver les échantillons en vue d'analyses biologiques (Wollum, 1994). Il semble que les changements dans les activités et la biomasse des micro-organismes ne soient pas significatifs si la durée de stockage est inférieure à 8 semaines. Cependant, si le stockage est plus long, il peut conduire à des modifications significatives de ces paramètres. La congélation n'est pas préconisée pour conserver les échantillons car elle induit des altérations de la structure de la matière organique ainsi que la dessiccation des échantillons (ce qui affecte la survie et l'activité des organismes) et fait exploser les cellules.

9. Analyse des intérêts, potentialités et limites de l'outil TerraSys dans la perspective de l'évaluation de la qualité biologique des sols

Ce chapitre a été rédigé par le bureau d'étude Ram-Ses, sous-traitant de la présente convention.

9.1. Objet

La présente note s'intègre dans le cadre de l'assistance à la convention DGARNE-ULg : « Appréciation des indicateurs biologiques comme outils d'évaluation de la qualité des sols ». Elle a pour objet l'analyse succincte des intérêts, des potentialités, et des limites de l'outil (logiciel) TerraSys® dans la perspective de l'évaluation de la qualité biologique des sols.

Cette analyse a été réalisée en exploitant :

- l'expérience du bureau Ram-Ses dans l'utilisation du logiciel,
- les informations du manuel de référence du logiciel (Sanexen, 2002),
- un article de synthèse dédié à la présentation du logiciel (Trépanier, 2003),
- deux articles comparant l'approche de modélisation développée dans le logiciel avec une évaluation des risques écotoxicologiques plus conventionnelle (Renoux *et al.*, 2005 ; Meredith James, 2005).

9.2. Description du logiciel TerraSys®

Le logiciel TerraSys® a été développé par la firme québécoise Sanexen Services environnementaux inc. en collaboration avec divers partenaires (Conseil national de recherches du Canada, par l'entremise de l'Institut de recherche en biotechnologie (IRB), la Ville de Montréal, le Consortium en recherches minérales du Québec (COREM), le ministère de l'Environnement du Québec) dans le cadre d'un projet de développement réalisé avec l'appui du Centre d'excellence de Montréal en réhabilitation de sites (CEMRS).

TerraSys® est un logiciel d'évaluation des risques écotoxicologiques, initialement développé pour les problématiques de terrains contaminés. Il travaille plutôt à l'échelle d'un site pollué (pouvant inclure une ou plusieurs parcelles cadastrales) mais peut être utilisé à une échelle plus large que celle d'un terrain dans la limite de la définition (1) du bassin versant ; (2) de la région climatique et (3) du type de sol.

Toutes les étapes de l'analyse des risques, de la saisie des données de caractérisation à l'évaluation finale des risques, sont prises en charge. Différents outils sont intégrés dans le logiciel, plus spécifiquement :

- Des bases de données regroupant l'ensemble de l'information requise pour la réalisation des évaluations de risques. Ces bases de données – interactives et modifiables – concernent :
 - Les polluants :
Une centaine de polluants sont recensés. Sont mentionnés les propriétés physico-chimiques, des coefficients de partage ($K_{d\text{sol}}$, $K_{d\text{sédiment}}$), des facteurs de bioconcentration/bioaccumulation, des valeurs de référence écotoxicologiques¹⁹ (concentrations de référence ou doses de référence) pour divers récepteurs écologiques.
 - Les récepteurs écologiques :
Les bases de données sur les récepteurs écologiques ne concernent que les types de récepteurs pour lesquels des représentants spécifiques peuvent être définis dans le modèle conceptuel. TerraSys® permet d'assigner des représentants spécifiques pour les macrophytes aquatiques, les poissons, les amphibiens, les reptiles, les oiseaux et les mammifères.
Les autres types de récepteurs sont définis comme une classe considérée globalement. Les invertébrés terrestres sont ainsi définis comme un type de récepteur sans identification d'un représentant spécifique. Les concepteurs de TerraSys® justifient cette approche par l'insuffisance des données pour caractériser les espèces individuellement ainsi que l'insuffisance des données écotoxicologiques.

¹⁹ La valeur de référence écotoxicologique correspond à un niveau sécuritaire d'exposition pour un récepteur donné exposé à un polluant donné.

Les récepteurs sont caractérisés par des variables physiologiques. Le type d'information disponible dépend du type de récepteur. A titre d'exemple, pour les poissons sont spécifiés le contenu en lipides et le contenu en eau tandis que pour les oiseaux sont précisés le poids corporel, la surface corporelle, la dépense énergétique, le taux d'ingestion de nourriture, de sol, d'eau et de sédiments, le taux d'inhalation, la taille de l'aire d'alimentation. A noter qu'aucune variable physiologique n'est mentionnée dans les bases de données des récepteurs pour les micro-organismes du sol, pour les invertébrés du sol ou pour les invertébrés terrestres et aériens. S'agissant plus particulièrement des micro-organismes du sol et les invertébrés du sol, la seule propriété requise dans TerraSys® pour le calcul de la concentration moyenne en polluant dans les micro-organismes est le contenu en eau (utilisé pour la conversion poids sec/poids humide). S'agissant des invertébrés terrestres et aériens ²⁰, les propriétés requises dans TerraSys® pour le calcul ultérieur de la concentration moyenne en polluant dans ces invertébrés (Cf. 3.3) sont la valeur moyenne du contenu en eau des invertébrés et les proportions (pourcentages) des invertébrés dont le stade larvaire est associé à un milieu donné (sol, végétation herbacée, sédiments des mares, l'eau de l'étang, etc). A noter que les proportions ne doivent inclure que les invertébrés dont les larves proviennent du terrain étudié. Si par exemple 50 % des invertébrés répertoriés ont un stade larvaire associé à un milieu aquatique (mare, étang, cours d'eau) mais que ce milieu n'est pas présent sur le site étudié, il ne sera pas tenu compte de cette proportion pour le calcul de la concentration moyenne en polluants dans les invertébrés. Par conséquent, la somme de ces proportions peut être inférieure à 100 % dans la mesure où une partie des larves des invertébrés serait originaire de l'extérieur du site étudié.

o Les données écotoxicologiques

Parmi les données écotoxicologiques disponibles dans le logiciel, signalons l'existence :

- d'indicateurs écotoxicologiques tels que les CL_{50} ²¹, CE_{50} ²², $NOEC$ ²³, $LOEC$ ²⁴ et
- et des données écotoxicologiques brutes permettant le calcul de relations dose-réponse ou concentration-réponse ;

Ces données écotoxicologiques peuvent être exploitées par l'analyste pour la définition d'autres *seuils d'interprétation* pour diverses combinaisons récepteur-polluant-type d'effet (à noter que le logiciel propose dans sa base de données relative aux polluants des *valeurs de référence* par défaut fixées d'après le p-10 des LOEC).

- Des outils de traitement des données de caractérisation des terrains contaminés (saisie, traitement statistique ou géostatistique des concentrations de polluants mesurées sur le terrain à l'étude).
- Des fonctions de cartographie des concentrations de polluants (concentrations mesurées ou interpolées).
- Une interface évoluée de définition des modèles conceptuels des écosystèmes à évaluer; cette interface conviviale permet de définir rapidement une représentation graphique de l'écosystème, tout en permettant la définition des propriétés de toutes les variables requises pour l'évaluation des risques.
- Plusieurs modèles mathématiques

²⁰ Les invertébrés terrestres et aériens regroupent notamment des coléoptères, des diptères, des orthoptères, des lépidoptères, des arachnides, des centipèdes, des millipèdes et certains mollusques.

²¹ CL_{50} concentration létale pour 50 % des individus

²² CE_{50} concentration effective produisant un effet pour 50 % des individus (de l'anglais *Effective Concentration*)

²³ $NOEC$ concentration maximale sans effet néfaste (*No Observed Effect Concentration*)

²⁴ $LOEC$ la concentration minimale avec effet (*Low Observed Effect Concentration*)

Le logiciel intègre plusieurs modèles développés notamment par l'Agence américaine de protection de l'Environnement (US-EPA) dans le cadre du développement du *Screening Level Ecological Risk Assessment Protocol for Hazardous Waste Combustion Facilities* (1999a, 1999b, 1999c) ainsi que le *Soil Screening Guidance* (1996). Pour la modélisation des processus abiotiques intervenant au sein d'un écosystème et ayant une influence directe ou indirecte sur les espèces vivantes qui y habitent, les concepteurs de TerraSys® se sont basés sur l'ouvrage de Burman et Pochop (1994).

Ces modèles ont pour fonction :

- de simuler les transferts des polluants dans l'environnement (modélisations multi-médias) et l'estimation des concentrations dans les divers compartiments environnementaux ;
 - d'estimer l'exposition des divers récepteurs écologiques aux polluants du sol (concentrations ou doses), à travers l'ensemble des voies possibles d'exposition. Ces modèles sont gérés par des algorithmes spécifiquement développés pour TerraSys®, permettant de réaliser des simulations même dans des systèmes complexes impliquant divers types de récepteurs et plusieurs niveaux trophiques .d'estimer des risques écotoxicologiques liés à l'exposition des divers récepteurs.
- Une fonction permettant le calcul rapide de valeurs de référence écotoxicologiques directement utilisables dans l'estimation des risques, et ce, à partir des bases de données intégrées au logiciel.
 - Des outils permettant l'utilisation des résultats de biotests ²⁵ pour l'évaluation des risques écotoxicologiques ; ces outils comprennent les fonctions de saisie, de traitement et d'interprétation des résultats de biotests, notamment aux fins de calcul d'indices de risque. (utilisables seuls, ou conjointement avec les fonctions plus traditionnelles de modélisation mathématique) ; le logiciel inclut un grand nombre de descriptions d'essais en spécifiant les références, les limites d'application et d'interprétation, la matrice testée, les voies d'exposition considérées, la durée d'exposition, la température, l'organisme testé, etc.).

9.3. Démarche générale d'une évaluation des risques écotoxicologiques avec TerraSys®

Le logiciel TerraSys® fournit un cadre méthodologique ainsi que des outils pour évaluer les risques écotoxicologiques associés à la pollution des sols. La démarche générale est présentée de façon schématique à la Figure 9.1. Elle se fonde sur le principe que l'évaluation des risques peut procéder selon trois approches :

- soit selon une approche fondée exclusivement sur la modélisation mathématique, au départ des concentrations en polluant dans le sol,
- soit selon une approche fondée sur des résultats de biotests réalisés sur des échantillons de sol provenant du terrain à l'étude,
- soit en couplant les résultats des deux approches.de manière à bénéficier des intérêts complémentaires de chacune des deux approches.

Dans le dernier cas (approche intégrée), TerraSys® recourt à une fonction d'intégration des résultats qui tient compte des « forces » et des « lacunes » propres à chaque méthode et qui considère le niveau de confiance rattaché à chaque résultat. Cette approche intégrée permet de réduire les sources d'incertitudes inhérentes à la modélisation mathématique notamment celles liées à la biodisponibilité réelle des polluants, celles liées à la disponibilité, la validité et la représentativité des valeurs de références pour les diverses combinaisons de récepteurs et de polluants.

²⁵ Essai expérimental déterminant l'effet d'une ou de plusieurs substances sur un groupe d'organismes sélectionnés, également appelé test écotoxicologique. Il est à noter que TerraSys® fournit une liste de 52 biotests utilisables, cette liste pouvant être complétée pour d'autres tests ecotoxicologiques proposés par l'utilisateur. Ces biotests évaluent la toxicité du sol sur différents organismes, pour la plupart des représentants des invertébrés du sol, des plantes herbacées et quelques représentants des micro-organismes (test MicroTox sur la bactérie *Vibrio fischeri*, et test sur la croissance de l'algue *Selenastrum capricornutum*).

De l'approche sélectionnée par l'analyste dépendent les autres étapes de l'analyse : la saisie des données de caractérisation, la conception du modèle conceptuel, la modélisation et l'interprétation finale des risques. Chacune d'elle fait l'objet d'un bref descriptif ci-dessous.

9.3.1. La saisie des données

La phase de saisie des données consiste à regrouper, sous une forme utilisable par TerraSys®, l'ensemble de l'information factuelle (obligatoire ou optionnelle) propre au cas à l'étude, plus particulièrement :

- les données de caractérisation des sols (concentrations des polluants) : ces données constituent le point de départ permettant de définir l'état de pollution du terrain ; elles constituent également le point de départ des modélisations multimédias visant à estimer les concentrations dans tous les autres compartiments environnementaux ; en l'absence de ces données, aucune évaluation n'est possible avec le logiciel ;
- les données de caractérisation des polluants (propriétés physico-chimiques, toxicologiques et environnementales²⁶) : celles-ci peuvent être directement sélectionnées dans les bases de données incluses dans le logiciel ou être introduites par l'analyste ;
- les résultats de biotests (optionnel) : la prise en compte des résultats de biotests effectués sur quelques échantillons de sol prélevés sur le terrain à l'étude est recommandée compte tenu des limites inhérentes à l'évaluation des risques par l'approche mathématique seule ;
- les données peuvent être utilement complétées par l'utilisation d'un fond de carte et d'une délimitation de la zone d'étude ; ces informations (optionnelles) sont requises pour réaliser les modélisations géostatistiques de la pollution.

9.3.2. La définition du modèle conceptuel de l'écosystème

La phase de définition du modèle conceptuel de l'écosystème constitue l'élément central du travail d'évaluation des risques. Le modèle conceptuel consiste en une représentation simplifiée de ce qui sera modélisé. Il inclut tous les éléments importants de l'écosystème, soit, d'une part, le milieu abiotique de support (eau, air, sol), et d'autre part, les éléments biotiques (récepteurs écologiques finaux ou intermédiaires) pour lesquels les risques sont évalués. Le modèle conceptuel inclut la description de la source de pollution, du milieu récepteur et des processus par lesquels les récepteurs écologiques sont exposés aux polluants ou, indirectement, aux effets des polluants sur d'autres récepteurs (Suter *et al.*, 2000). La figure 9.2. illustre un exemple d'un modèle conceptuel simple pour quatre récepteurs écologiques : la végétation herbacée, les micro-organismes du sol, les invertébrés du sol et un oiseau omnivore (merle d'Amérique). La multiplicité des voies d'exposition susceptibles d'être considérées apparaît également à la figure 9.2.

²⁶ Par « propriété environnementale » les concepteurs sous-entendent « propriété physico-chimique déterminant du comportement environnemental du polluant », comme par exemple la constante d'Henry.

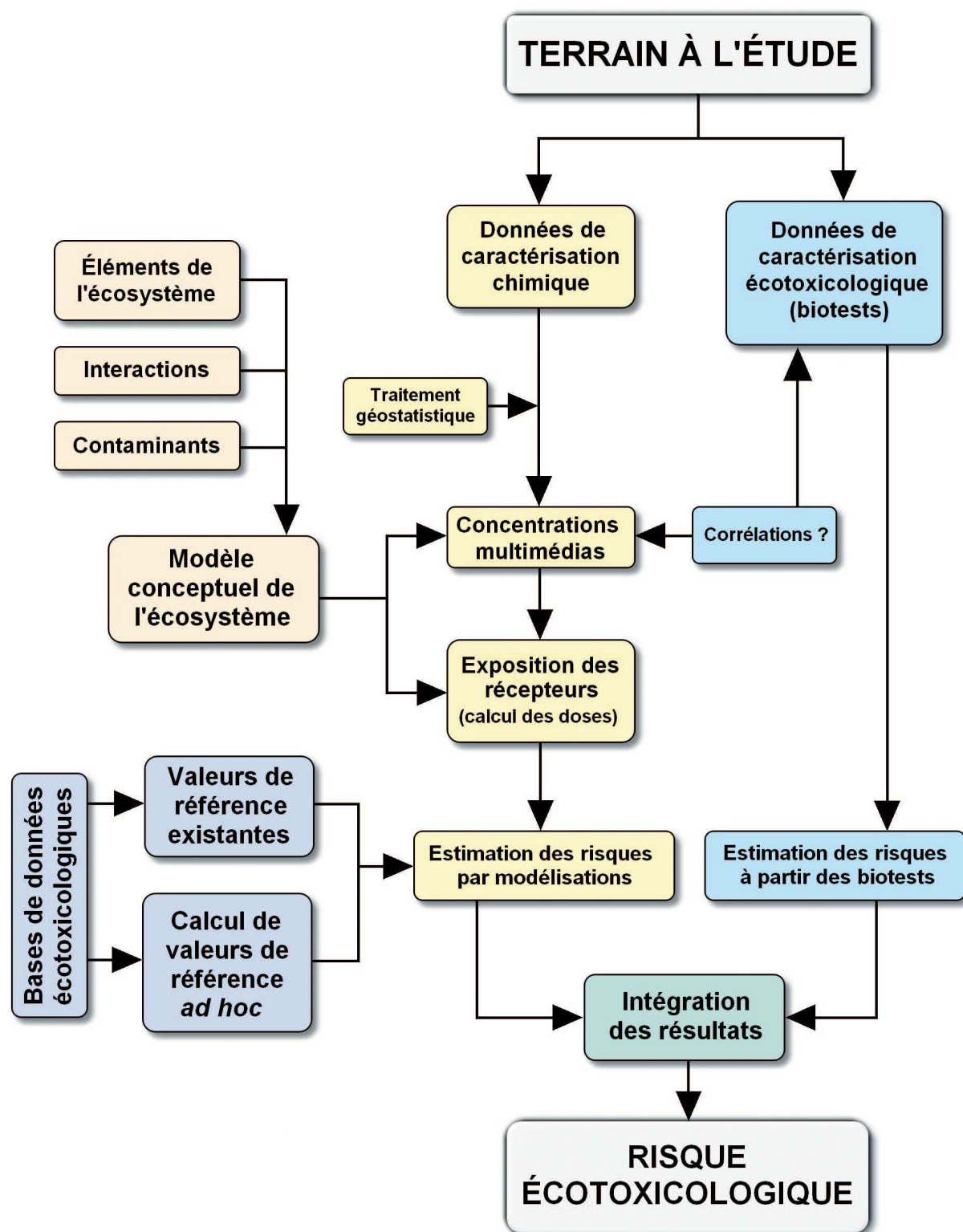


Figure 9.1. Schéma de la démarche générale d'une évaluation des risques écotoxiques avec TerraSys®. (Source : Trépanier, 2003).

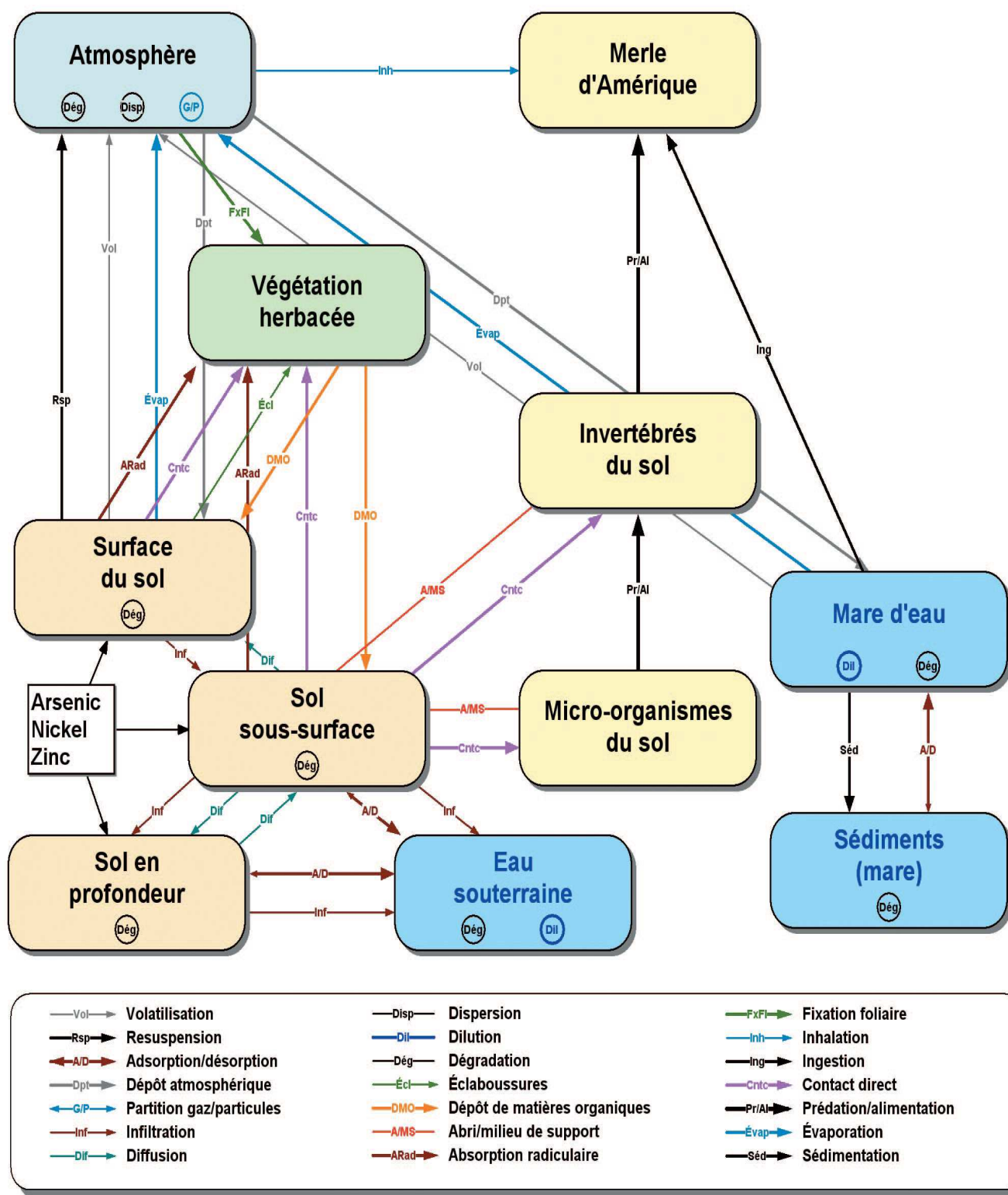


Figure 9.2. Exemple d'un modèle conceptuel simple pour quatre récepteurs écologiques : la végétation herbacée, les micro-organismes du sol, les invertébrés du sol et un oiseau omnivore (merle d'Amérique).

9.3.3. La modélisation

A partir des données propres au site et du modèle conceptuel de l'écosystème, le logiciel permet d'estimer, par modélisation, les concentrations dans l'ensemble des médias. Cette estimation est nécessaire pour évaluer l'exposition de chaque récepteur aux polluants du sol.

La modélisation des données comporte principalement deux étapes distinctes :

- la modélisation des concentrations dans les divers médias

Cette étape consiste à estimer les concentrations de polluants dans chacun des éléments, biotiques ou abiotiques, de l'écosystème, en tenant compte des concentrations initiales dans le sol, des propriétés physico-chimiques et environnementales des substances, ainsi que de la définition du modèle conceptuel (Fig. 9.3).

A titre d'exemple, TerraSys® calcule les concentrations en polluants dans les invertébrés du sol à partir des concentrations totales en polluants dans le sol (à partir de régressions ou en faisant appel à des coefficients de bioconcentration $BCF_{\text{sol-invertébrés}}$ pour les polluants organiques notamment).

Pour les invertébrés terrestres et aériens, la concentration moyenne en polluants dans ces récepteurs est calculée à partir des concentrations totales en polluants dans le sol et en tenant compte des proportions (ou pourcentages) des invertébrés dont le stade larvaire est associé à un milieu donné. Ainsi, les concentrations en polluants dans les invertébrés dont le stade larvaire est aquatique sont estimées à partir des concentrations du polluant dans le cours d'eau ou le plan d'eau auquel les larves sont associées. De même, les concentrations dans les invertébrés dont les larves vivent dans le sol sont estimées à partir des concentrations dans le sol.

A noter que l'analyste a également la possibilité de « court-circuiter » la modélisation des concentrations de l'un ou l'autre élément de l'écosystème et d'introduire directement des concentrations compartimentales mesurées.

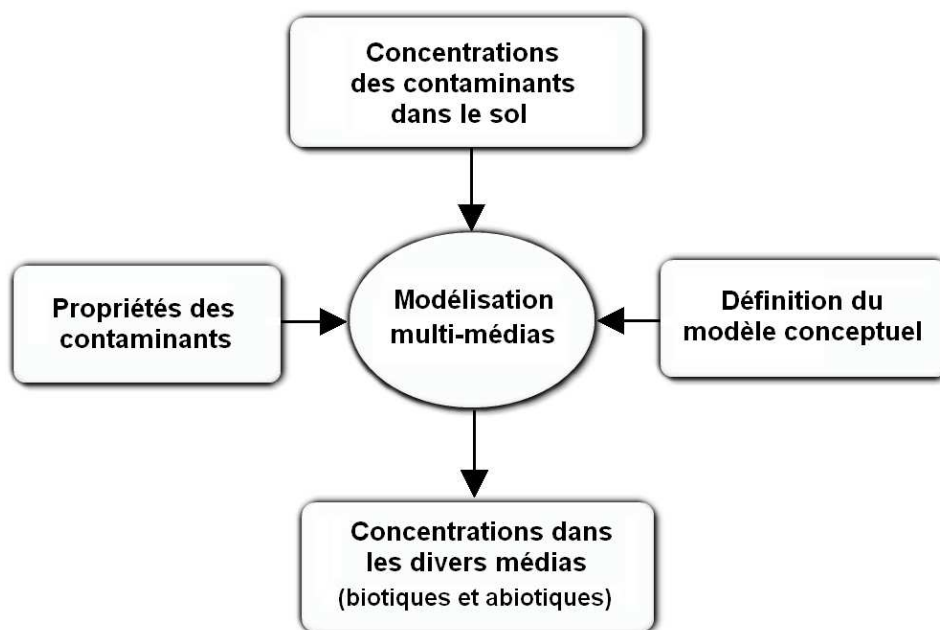


Figure 9.3. Représentation schématique de la démarche en vue de la modélisation des concentrations dans les divers médias.

- la modélisation de l'exposition et des risques pour les divers récepteurs

Cette étape est analogue à la précédente. Elle utilise les propriétés physico-chimiques et environnementales des polluants et la définition du modèle conceptuel comme variables d'entrée déterminantes. Cette étape utilise toutefois les concentrations calculées à l'étape précédente pour estimer l'exposition des récepteurs, soit les concentrations ou les doses auxquelles les récepteurs sont soumis (cf. encart ci-dessous), puis les risques que représente l'exposition (Fig. 9.4). Si l'on

reprend l'exemple des invertébrés terrestres et aériens, les concentrations calculées dans ces invertébrés seront utilisées pour calculer les concentrations dans les maillons supérieurs de la chaîne trophique (pour les oiseaux par exemple).

Pour le calcul des risques, il est tenu compte soit des *valeurs de référence écotoxicologiques* disponibles dans la base de données des polluants, soit d'un autre *seuil d'interprétation* défini par l'analyste à partir des ressources de la base de données des indicateurs écotoxicologiques ou de celle relative aux données écotoxicologiques brutes²⁷. La présence ou l'absence de risque dépend ainsi in fine de la définition donnée au risque. En d'autres termes, le calcul des indices de risques (cf. encart) dépend des options définies par l'évaluateur. Par exemple, si l'objectif est d'estimer le risque de mortalité d'une population donnée d'organismes, les *seuils d'interprétation* à utiliser devraient plutôt être définis à partir d'un estimateur de mortalité (par exemple, la concentration létale pour 50 % des individus - CL₅₀). Si l'objectif est plutôt d'estimer le risque d'effets toxiques quelconques mais non létaux, l'indicateur à retenir devrait être une concentration effective (CE) plutôt qu'une concentration létale. Cette concentration peut aussi correspondre à un niveau de protection souhaité afin d'assurer la pérennité de la population. Ainsi, si le niveau de protection souhaité est de 80 % des individus, l'analyste veillera à sélectionner des CE₂₀.

Si l'on reprend l'exemple des invertébrés terrestres et aériens, il sera également tenu compte des proportions d'invertébrés dont le stade larvaire est associé à chacun des milieux pour le calcul de l'IR (IR pour les larves associées au sol, IR pour les larves associées à la végétation herbacée, IR pour les larves associées aux sédiments, etc), l'indice de risque total pour les larves étant la somme des différents indices de risques associés à chacun des milieux.

Le logiciel permet également de calculer un indice de risque « intégré » lorsque les résultats de la modélisation sont combinés à des résultats de biotests.

Remarque à propos du calcul des indices de risque par TerraSys®

Il y a lieu de noter que les indices de risque (IR) sont calculés de façon distincte pour les récepteurs : (1) invertébrés du sol, macrophytes, poissons et amphibiens et (2) les mammifères, oiseaux et reptiles. Dans le cas (1) les IR correspondent à un rapport de concentrations en polluant dans le sol : il s'agit du rapport entre la concentration mesurée en polluant et une valeur de concentration retenue comme *valeur de référence toxicologique* qui est sélectionnée ou déduite par calcul au départ des indicateurs toxicologiques disponibles (par exemple : CL₅₀, CE₅₀, NOEC, ou LOEC) ou qui peut encore être définie par l'analyste sur base d'un travail d'exploitation des données écotoxicologiques brutes. Dans le cas (2) les IR correspondent plus strictement à un rapport de dose d'exposition : il s'agit du rapport entre la dose d'exposition (exprimée en mg de polluant par unité de masse corporelle et par jour) estimée par calcul au départ de la concentration en polluant du sol et une dose d'exposition limite sélectionnée en fonction des données de la littérature et retenue comme *valeur de référence toxicologique*.

Bien que le développement du logiciel ait bénéficié des nombreux travaux réalisés dans le domaine de l'évaluation des risques – et notamment ceux publiés par l'Environmental Protection Agency (EPA) –, les concepteurs soulignent que les modèles proposés ne peuvent pas être considérés comme pleinement validés (Trépaniers, 2003). La firme Sanexen Services environnementaux inc. précise notamment dans son manuel de référence : « *Considérant les limites des connaissances actuelles dans le domaine de l'écotoxicologie, et tenant compte des restrictions pratiques généralement liées à la réalisation d'évaluations des risques, TerraSys® doit*

²⁷ A noter, qu'en l'état actuel, il existe peu de données écotoxicologiques pour les micro-organismes. Ainsi, les indicateurs écotoxicologiques ne sont issus que d'une seule référence bibliographique qui concerne exclusivement le nickel. Les données écotoxicologiques brutes sont également issues d'une seule référence bibliographique et ne concerne que la chrome.

être considéré comme un outil permettant d'estimer l'ordre de grandeur des risques pour les divers types de récepteurs écologiques au sein d'un écosystème. »

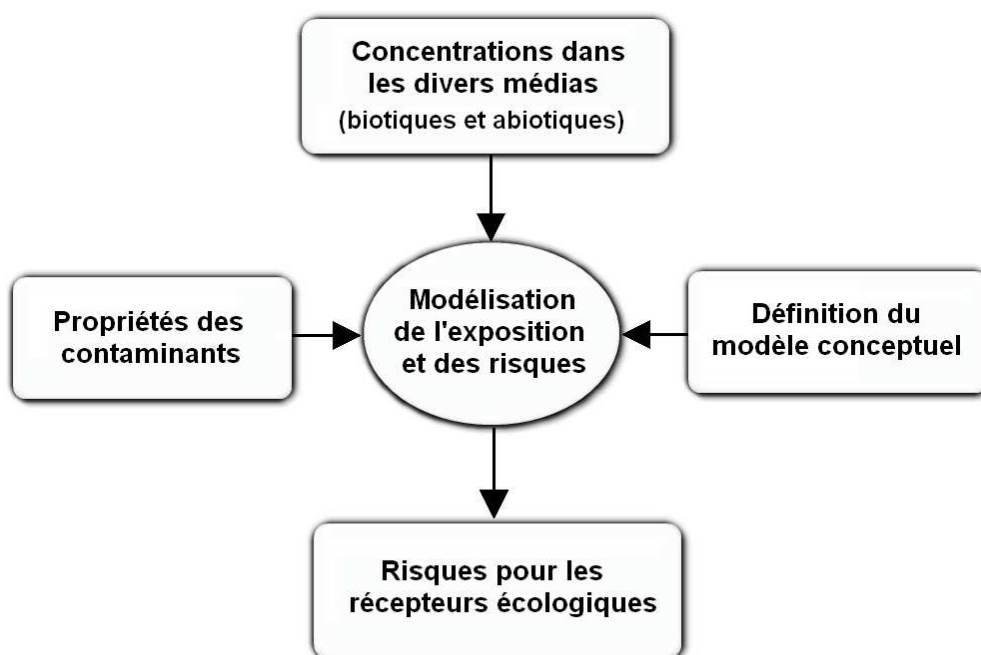


Figure 9.4. Représentation schématique de la démarche en vue de la modélisation de l'exposition et des risques. (Source : Trépanier, 2003).

9.3.4. L'interprétation des résultats

L'interprétation des résultats – exprimés sous forme d'indices de risque IR - constitue l'étape finale de l'évaluation des risques écotoxicologiques. Bien que certaines fonctions d'assistance soient disponibles dans le logiciel, cette étape fait appel de manière prépondérante à l'expertise professionnelle de l'évaluateur.

9.4. Analyse des intérêts, des potentialités et des limites du logiciel TerraSys dans la perspective de l'évaluation de la qualité biologique des sols

Bien que développé dans la perspective de l'évaluation des risques écotoxicologiques, la question des intérêts, des potentialités et des limites du logiciel TerraSys® dans la perspective de l'évaluation de la qualité biologiques des sols a été posée.

Au titre des intérêts généraux, l'hypothèse que l'on peut formuler est que TerraSys® pourrait aider à anticiper l'impact d'une pollution du sol sur certaines communautés biologiques du sol (principalement les invertébrés du sol, les invertébrés terrestres et aériens) en l'absence de mesure spécifique sur ces communautés, et pourrait éventuellement permettre d'anticiper la réponse de certains des indicateurs qui seraient mis en œuvre dans le cadre d'un réseau de surveillance. Autrement, on peut aussi envisager que le logiciel puisse, d'une façon plus générale, fournir une aide pour l'interprétation des résultats de mesure des indicateurs. Les résultats d'une exploration spécifique du logiciel dans ces perspectives sont donnés ci-dessous : la section 10.4.1 présente les principales limites et la section 10.4.2. les intérêts et potentialités.

9.4.1. Analyse des limites du logiciel TerraSys® dans la perspective de l'évaluation de la qualité biologique des sols

Les principales limitations qui ressortent d'une première analyse d'ensemble du logiciel TerraSys® dans la perspective citée supra sont les suivantes :

- Le logiciel TerraSys® a été conçu initialement dans la perspective de l'évaluation des risques écotoxicologiques dans le cadre de la législation québécoise sur les lieux contaminés; il évalue ainsi les

doses d'exposition et les risques susceptibles d'être encourus – directement ou indirectement – par divers récepteurs au départ d'une pollution du sol, supposée constituer l'unique pression exercée sur l'écosystème : le champ potentiel d'application de l'outil TerraSys® est dès lors d'emblée limité à la réalisation de pronostics – sur la réponse d'un organisme ou d'un indicateur – dans des systèmes où seul le paramètre «concentration en polluant du sol » varierait, tous les autres paramètres influant sur les communautés biotiques et leurs activités restant égaux.

- A l'instar des logiciels dédiés à l'évaluation des risques pour la santé humaine, les risques écotoxicologiques associés à la pollution du sol sont estimés pour des polluants qui sont toujours considérés individuellement (hypothèse d'une mono-exposition) ²⁸ ; l'effet cocktail lié à la présence simultanée de plusieurs polluants n'est pas pris en compte, ou bien seulement en recourant à l'hypothèse fortement conservatrice de considérer l'additivité complète des risques associés à chacun des polluants du mélange. Il s'ensuit une marge d'incertitude appréciable sur les pronostics en matière d'impact sur organismes lorsqu'on a affaire à des mélanges de polluants (ce qui est généralement le cas dans la plupart des situations). A noter que le recours aux biotests sur des échantillons prélevés sur le site d'étude permet, d'une part, de réduire les incertitudes sur ces pronostics et, d'autre part, de tenir compte des interactions entre les polluants présents.
- Dans la perspective d'une utilisation à titre d'outil de pronostic de la qualité biologique des sols, et des réponses de certains des indicateurs de surveillance, ce sont essentiellement les groupes de récepteurs désignés dans le logiciel comme « invertébrés du sol » et « invertébrés terrestres et aériens » qui doivent retenir l'intérêt. Pour ces deux groupes, on peut anticiper que la qualité – en tant que « justesse » relative – des pronostics qui pourront être effectués dépendra pour l'essentiel de la qualité et de l'abondance relative des données de référence incluses dans la base de données écotoxicologiques (étant entendu que, dans le mode d'utilisation du logiciel, on aurait recours seulement à l'approche par modélisation, sans l'appui de biotests). A ce titre une exploration spécifique de la base de données, montre les éléments suivants :
 - A propos de la qualité des données tout d'abord, il faut mentionner que pour la très grande majorité, les données sont issues d'essais de laboratoire où des échantillons de sol ont été artificiellement enrichis en polluants par équilibration avec des solutions salines de concentrations croissantes et concernent des durées de temps limitées. Il s'ensuit que les relations concentrations–effets ainsi établies peuvent différer dans une large mesure des relations qui pourraient être attendues dans les systèmes réels (non artificiellement dopés), les polluants – tant inorganiques qu'organiques – pouvant en système « réel » encourir des processus de réduction de biodisponibilité ²⁹ avec le temps, d'une part, et pouvant aussi parvenir aux sols sous des formes déjà très faiblement biodisponibles (p.ex. sous forme d'oxydes dans les retombées de poussières métallique), d'autre part.
 - A propos de la disponibilité des données, la section 5 ci-après consigne les résultats d'une exploration spécifique des données disponibles dans TerraSys® pour les micro-organismes du sol, les invertébrés du sol et les invertébrés terrestres et aériens. Il en ressort notamment que les données relatives aux micro-organismes du sol sont particulièrement limitées (Cf. 5.) : la base de données relatives aux indicateurs écotoxicologiques ne répertorie que trois références issues d'une seule référence bibliographique qui concerne exclusivement le nickel (effets de sel de nickel sur les processus microbiens sans plus de précision). Il en est de même pour les données écotoxicologiques brutes qui répertorient un total de onze références. Elles sont toutes issues d'une seule référence bibliographique décrivant l'effet du chrome (sous la forme de dichromate de potassium ou de chlorure chromique) sur l'inhibition de la croissance de diverses bactéries (flavobactéries, thallobactérie, corynébactérie, mycobactérie, pseudomonas, etc). Les concepteurs de TerraSys® soulignent la possibilité d'amender facilement ces bases de données dont la mise à jour date de 2003). Cependant,

²⁸ Signalons le fait qu'aujourd'hui aucun modèle ne le permet réellement. Il ne s'agit donc pas d'une limitation spécifique au logiciel TerraSys®.

²⁹ Dans un sol dopé artificiellement, les polluants seront plus biodisponibles que dans un sol non artificiellement dopé.

ces données sont actuellement peu disponibles et nécessitent des test en laboratoire pour différents polluants et types de sol

9.4.2. Analyse des intérêts et potentialités du logiciel TerraSys® dans la perspective de l'évaluation de la qualité biologique des sols

Malgré qu'il constitue un modèle fondé sur des hypothèses souvent fortement simplificatrices (quelques-unes de ces hypothèses simplificatrices sont énoncées dans l'encart ci-dessous) le logiciel TerraSys® présente néanmoins l'intérêt d'être un des rares outils³⁰ permettant d'évaluer l'impact potentiel d'une pollution du sol sur les écosystèmes pris dans leur ensemble en se basant sur une modélisation des relations trophiques existant entre les principaux groupes d'espèces. Un des intérêts potentiels de l'approche TerraSys® est dès lors de permettre une liaison compréhensive des relations entre les impacts de la pollution des sols au niveau de certaines communautés biologiques du sol et les impacts au niveau des organismes des niveaux trophiques supérieurs vivant au-dessus du sol (ou la perte de biodiversité dans son ensemble). Ces relations, très rarement appréhendées et pour lesquelles il est reconnu qu'il existe de grandes lacunes dans les connaissances scientifiques (Turbé *et al.*, 2010) ont un intérêt certain à la fois pour la politique des sols et celle de la conservation des espèces.

Parmi les hypothèses simplificatrices du modèle TerraSys® :

- Dans la modélisation des relations trophiques, TerraSys® fonctionne en assignant des représentants spécifiques pour certains types de récepteurs : macrophytes aquatiques, poissons, amphibiens, reptiles, oiseaux et mammifères ; les autres types de récepteurs sont définis comme une classe considérée globalement : par exemple, les invertébrés terrestres sont définis comme un type de récepteur sans identification d'un représentant spécifique ;
- Le calcul des concentrations en polluants dans les groupes d'organismes considérés aux premiers niveaux de la chaîne trophique (invertébrés du sol et les micro-organismes du sol, invertébrés terrestres et aériens) s'effectue sur base de relations simples au départ des concentrations totales en polluant dans le sol (cf. 3.3. modélisation des concentrations dans les divers médias). Les seules caractéristiques physiologiques prises en compte pour la définition finale des concentrations atteintes dans les organismes sont,
 - pour les micro-organismes et les invertébrés du sol : les contenus en eau (utilisée pour la conversion poids sec/poids humide des),
 - pour les invertébrés terrestres et aériens : les contenus en eau et les proportions des invertébrés dont le stade larvaire est associé à un milieu donné (sol, végétation herbacée, sédiments des mares, l'eau de l'étang, etc) .

Concernant les macro-organismes du sol pertinents dans le domaine du suivi de la qualité des sols (invertébrés du sol, invertébrés terrestres et aériens), TerraSys® présente au minimum l'intérêt de constituer un réservoir de données de référence à propos des relations « concentrations en polluants-effets » et des indicateurs écotoxicologiques (NOEC, LOEC, CL, CE) (fonction de base de données) en même temps qu'il constitue un outil flexible permettant une exploitation de ces données.

A cet égard, la flexibilité de TerraSys® :

- permet à l'analyste d'exploiter les données disponibles tout en s'adaptant aux besoins et aux objectifs fixés par l'analyste (sélection de concentration létales pour une estimation des risques

³⁰ Un autre outil, développé plus récemment est le logiciel BERISP (Breaking Ecotoxicological Restraints in Spatial Planning, <http://www.berisp.org/products-dss.html> (van den Brink et al., , 2007). Le programme BERISP se fonde sur une approche globalement similaire mais il est développé pour des unités spatiales relativement larges pouvant inclure différents types d'affectation du sol vis-à-vis desquelles les grands prédateurs peuvent développer des relations préférentielles dans leurs efforts de recherche de nourriture. D'une façon générale, BERISP se positionne plus comme un outil de décision en matière d'aménagement du territoire (en partant notamment du principe qu'une optimisation des affectations du sol peut constituer une solution durable pour minimiser globalement les impacts de certaines zones polluées sur les écosystèmes), alors que TerraSys® répond plus à la fonction d'outil de décision en matière d'acceptation ou non des concentrations en polluant existant dans le sols.

de mortalité pour une population d'organismes ou de concentrations effectives pour estimer des risques toxiques non létaux assurant un niveau de protection souhaité par l'analyste) ;

- permet à l'analyste de modifier, de compléter ou d'ajouter si nécessaire des informations relatives à une espèce supplémentaire ou des informations relatives à un polluant particulier qui ne serait pas encore repris dans la base de données, ou des résultats issus de biotests ;

D'autres intérêts généraux, communs aux différentes perspectives d'utilisation du logiciel sont les suivants :

- le logiciel est un outil convivial, permettant une approche cohérente, intégrée et guidée ; du fait de la dimension « écologique » du logiciel, les modèles intégrés permettent de simuler divers processus environnementaux qui interviennent dans le fonctionnement de l'écosystème et le transfert des polluants (évaporation, bilans hydrique et sédimentaire, dispersion atmosphérique, ruissellement, infiltration, resuspension de sol en surface, etc.) ;
- TerraSys® intègre un outil cartographique et les algorithmes pour le traitement de l'information facilitant la visualisation des données ;
- Le logiciel offre la possibilité d'intégrer et d'interpréter les résultats de biotests ;
- TerraSys® prend en compte tant les effets directs d'une pollution que les effets indirects ; cette fonction identifie les conséquences secondaires possibles de la pollution ; ainsi, des récepteurs qui ne seraient pas directement touchés par la pollution pourraient néanmoins être affectés indirectement, de manière positive ou négative, par des modifications de l'écosystème³¹ ;
- En ce qui concerne la détermination des valeurs de référence, l'analyste a le choix de prendre en compte ou non des concentrations de fond et de choisir d'adapter ou non la valeur de référence en fonction du fond géochimique naturel ;
- TerraSys® fournit une appréciation du niveau de confiance associé au résultat final du calcul des indices de risques ; dans la mesure où l'analyste opte pour la combinaison de la modélisation et les biotests, le logiciel calcule une valeur qui fournit une indication directe de la présence ou de l'absence de risque, ainsi que du degré de confiance qui y est associé sur la base des modélisations et des biotests combinés³².

9.5. Exploration des données disponibles dans TerraSys® pour les micro-organismes du sol, les invertébrés du sol et les invertébrés terrestres et aériens

Dans le cadre de l'analyse de TerraSys®, nous nous sommes intéressés plus particulièrement aux données disponibles pour les micro-organismes du sol, les invertébrés du sol, les invertébrés terrestres et aériens.

Sur la centaine de polluants répertoriés, il apparaît que des valeurs de références écotoxicologiques soient disponibles pour dix-sept métaux lourds/métalloïdes et seulement pour treize polluants organiques. Le tableau 9.1 les répertorie pour les micro-organismes du sol et les invertébrés du sol. Ces valeurs ont été fixées d'après le percentile 10 des LOEC.

³¹ A titre d'exemple, citons le cas de deux récepteurs écologiques différents qui se nourriraient d'une même ressource et qui seraient, dans une mesure plus ou moins significative, en compétition. Si l'une de ces espèces subissait des effets toxiques sérieux, son compétiteur pourrait, indirectement, bénéficier de la réduction partielle ou totale de la population de l'espèce touchée. Même si la toxicité des sols ne les atteint pas directement, ces récepteurs subiraient donc un effet indirect qui peut être évalué par le logiciel.

³² Il est à noter que même si les biotests auxquels TerraSys® se réfère sont des tests d'écotoxicité, rien n'empêche théoriquement l'utilisation des différents indicateurs préconisés à la section 9.2, tels que : la biomasse microbienne, la respiration basale, la minéralisation nette de l'azote, la diversité microbienne (biolog), la biomasse et l'abondance des vers de terre. Pour l'interprétation de ces mesures en termes de toxicité (calcul des indices de risque pour les micro-organismes du sol ou invertébrés du sol) il serait toutefois nécessaire de disposer des valeurs de réponse des indicateurs pour des situations de référence qui devraient correspondre strictement aux échantillons de sol non pollués et avec toute autre condition de milieu égale. En pratique, il sera en règle générale difficile de trouver des situations de référence répondant à ces conditions, de sorte que le traitement par TerraSys® des résultats des mesures des indicateurs biologiques -tels ceux préconisés dans ce travail- pourra se révéler une opération hasardeuse. Il vaudra mieux, d'une façon générale, travailler de façon qualitative en évaluant comparativement les résultats de modélisation, les résultats des tests écotoxicologiques et les résultats des mesures des paramètres biologiques tels ceux proposés ici à titre d'indicateurs biologiques pertinents.

Polluant	Valeurs de référence écotoxicologiques ⁽¹⁾ (mg/kg)	
	Micro-organismes du sol et processus microbiologiques	Invertébrés du sol (ver de terre)
Métaux lourds/métalloïdes		
Aluminium	600	-
Argent	50	-
Arsenic	100	60
Baryum	3000	-
Bore	20	-
Cadmium	20	20
Chrome total	10	0,40
Chrome hexavalent	-	-
Cobalt	1000	-
Cuivre	100	50
Etain	2000	-
Manganèse	100	-
Mercure inorganique	30	0,10
Molybdène	200	-
Nickel	90	200
Plomb	900	500
Sélénium	100	70
Zinc	100	200
Polluants organiques		
Acrylonitrile	1000	
Chlorobenzène	-	40
Dichlorobenzène (1,4-)	-	20
Dichloropropane (1,2-)	-	700
Diméthylphtalate	-	200
Fluorène	-	30
Hexachlorobenzène	1000	-
Phénol	100	30
Pentachlorophénol	400	6
Tétrachlorure de carbone	1000	
Trichlorobenzène	-	20
Trichlorophénol (2,4,5-)	-	9
Trichlorophénol (2,4,6-)	-	10

Tableau 9.1. Valeurs de référence écotoxicologiques disponibles dans TerraSys® pour les micro-organismes du sol et pour les invertébrés du sol.

(1) Les valeurs de référence sont fixées d'après *Efroymson et al. (1997). Toxicological Benchmarks for Pollutants of Potential Concern for Effects on Soil and Litter Invertebrates and Heterotrophic Process: 1997 Revision (ES/ER/TM-126/R2)*. Elles sont fixées au p-10 de la distribution des LOEC (tout effet confondu excepté la mortalité).

Les indicateurs écotoxicologiques disponibles dans la base de données de TerraSys® pour ces récepteurs sont synthétisés au tableau 9.2. Est également mentionné le nombre de références disponibles pour chacun de ces récepteurs. L'exercice a été réalisé pour deux polluants : l'arsenic (As) et le cadmium (Cd). Sur les trois références disponibles pour les micro-organismes, aucune ne concerne l'As ou le Cd. Parmi les six-cents-soixante-six références pour les invertébrés du sol, neuf d'entre elles concernent l'As (seul effet considéré est la mortalité) et quatre-vingt concernent le cadmium (les effets considérés sont la croissance, la reproduction et

la mortalité). Pour les invertébrés terrestres, un total de trois-cents-septante références sont répertoriées dont nonante-sept pour le Cd (effets sur la croissance, la reproduction et la mortalité de collemboles). Aucune référence n'est donnée pour l'As.

Il est également possible de recourir aux données écotoxicologiques brutes (relations concentrations en polluant - % d'effet) pour déterminer un seuil d'interprétation qui serait plus pertinent. Les données sont les plus abondantes pour les invertébrés du sol (deux-cents-soixante-et-une références dont trente-neuf pour le Cd, Tableau 9.3.).

Récepteur	Nombre de références tous polluants confondus	Données disponibles pour l'arsenic et le cadmium			
		Polluant (nombre de références)	Types d'indicateurs écotoxicologique (nombre de références)	Effet(s) considéré(s)	Nom commun de/des espèce(s) considérée(s)
Micro-organismes du sol	3	As (aucune)	-	-	-
		Cd (aucune)	-	-	-
Invertébrés du sol	666	As (9)	CL50 (6) CL25 (3)	Mortalité	Ver du fumier Ver de terre Mouche domestique
		Cd (80)	CE50 (16) CE20 (1) CE10 (1) CL50 (39) CL25 (3) LOEC (12) NOEC (8)	Croissance Reproduction Mortalité	Collembole Ver de terre Ver du fumier Ver nématode Escargot petit gris Enchitré Ver rouge du fumier Ver de pâturage
Invertébrés terrestres et aériens	370	As (aucune)	-	-	-
		Cd (97)	CE50 (67) CE10 (1) CL50 (11) NOEC (15) LOEC (3)	Croissance Reproduction Mortalité	Collembole

Tableau 9.2. Aperçu des indicateurs écotoxicologiques disponibles dans la base de données du logiciel TerraSys® pour les micro-organismes, les invertébrés du sol, les invertébrés terrestres et aériens pour l'arsenic (As) et le cadmium (Cd) pris comme exemple.

Récepteur	Nombre de références tous polluants confondus	Données disponibles pour l'arsenic et le cadmium		
		Polluant (nombre de références)	Effets considérés	Nom commun de/des espèce(s) considérée(s)
Micro-organismes du sol	11	As (aucune)	-	-
		Cd (aucune)	-	-
Invertébrés du sol	261	As (10)	Reproduction Mortalité	Ver du fumier Ver de terre
		Cd (39)	Reproduction Mortalité	Bombix Disparata (lépidoptère) Collembole Escargot petit gris Oligochète Ver de terre Ver du fumier Ver rouge du fumier Ver rouge de marécage Ver nématode Ver de pâturage
Invertébrés terrestres et aériens	29	As (aucune)	-	-
		Cd (3)	Reproduction Mortalité	Oedipode Emeraudine Cloporte rugueux Sauterelle

Tableau 9.3. Aperçu des données écotoxicologiques brutes (relations concentration - % effet) exprimé en nombre de références disponibles pour les micro-organismes, les invertébrés du sol, les invertébrés terrestres et aériens. L'arsenic (As) et le cadmium (Cd) sont pris comme exemple.

9.6. Synthèse du cadre d'application de TerraSys® et perspectives d'utilisation

Une synthèse du cadre d'application du logiciel TerraSys® est donnée au tableau 9.4. TerraSys® est un outil conçu initialement pour évaluer les impacts écotoxicologiques associés à une concentration en polluant(s) dans les sols. Une de ses principales limitations en tant qu'outil d'aide à l'appréciation de la qualité biologique des sols est dès lors – par définition – qu'il n'adresse que l'impact d'une pollution sur les organismes des sols (et en particulier les invertébrés). L'incidence, sur la qualité biologique du sol, des facteurs du milieu autres que la pollution du sol (cf. figure 10.5.) ne peut être évaluée par TerraSys®.

En outre, s'agissant des pronostics qu'il pourrait faire sur les communautés microbiennes et les communautés des invertébrés du sol, le logiciel ne fonctionne pas pour ces récepteurs sur base d'une modélisation des processus, mais seulement par comparaison à des données de la littérature – obtenues en condition de laboratoire pour la plupart de type « concentration du sol en polluant – % d'effet(s) ». Les performances du logiciel, dans la perspective d'une utilisation pour estimer la qualité biologique des sols, sont dès lors entièrement tributaires de la disponibilité des données écotoxicologiques (relations concentration-effets) existant pour les différents polluants et organismes. Pour certains de ceux-ci, en particulier les polluants organiques, les ressources de la base de données incluse dans le logiciel s'avèrent encore particulièrement limitées. Signalons qu'aujourd'hui les données écotoxicologiques relatives aux micro-organismes sont aussi inexistantes (1 seule référence bibliographique pour le Ni et pour le Cr dans le logiciel).

Un des principaux intérêts perçus pour l'utilisation du logiciel dans la perspective étudiée est qu'il constitue un outil flexible d'exploitation des données écotoxicologiques (indicateurs écotoxicologiques et données écotoxicologiques brutes) existant à propos des macro-organismes du sol, de même qu'un outil évolutif, puisque les données d'observation nouvellement acquises (dont éventuellement celles issues de mesures de certains indicateurs) peuvent être intégrées par les utilisateurs dans la base de données. L'apport de ces données nécessite cependant des tests en laboratoire avec plusieurs polluants et types de sols. Un autre intérêt potentiel est de permettre une évaluation de l'impact potentiel d'une pollution du sol sur les écosystèmes pris dans leur ensemble et en particulier de relier les impacts (mesurés ou attendus) de la pollution des sols au niveau des invertébrés du sol avec les impacts au niveau des organismes des niveaux

trophiques supérieurs vivant au-dessus du sol. Les potentialités en cette matière doivent cependant être vérifiées.

En conclusion même si l'outil, dans la perspective de constituer un appui dans le cadre d'un suivi de la qualité biologique des sols, présente en première analyse une série de limitations, son intérêt potentiel ne doit pas pour autant être d'emblée négligé.

Certaines pistes devraient être explorées et discutées plus avant avec les concepteurs, notamment celle de pouvoir ajouter des récepteurs additionnels dans la base de données, en particulier des micro-organismes du sol et des invertébrés actuellement regroupés sous une même catégorie dans les modèles conceptuels. Certaines études ponctuelles pourraient par ailleurs être envisagées³³ pour explorer de façon plus approfondie les potentialités de l'outil.

³³Par exemple : l'étude comparée des réponses d'une série d'indicateurs (indicateurs relevant des paramètres microbiens et faunistiques, parmi ceux relevés dans le cadre de cette étude) et des réponses (indices de risque) de TerraSys® pour une série de points d'échantillonnage qui seraient sélectionnés sous le vent en aval de certaines entreprises (par exemple fonderies) de façon à disposer de gradients de concentrations en polluants tout en gardant des conditions de sol (propriétés, modes d'utilisation) homogènes.

Limitations	Intérêts	Potentialités d'exploitation
<ul style="list-style-type: none"> • Travaille à l'échelle du site et/ou de la parcelle • Les concentration(s) en polluant(s) dans le sol sont des données indispensables pour le fonctionnement du logiciel (en l'absence de pollution, possibilité d'utiliser les teneurs brutes de fond) • Cartographie limitée à la distribution spatiale des concentrations (mesurées et/ou interpolées) • Pas de cartographie des risques • Pas de distinction taxonomique au sein des invertébrés du sol et au sein des invertébrés terrestres et aériens • Une seule référence bibliographique pour les données microbiologiques • Le calcul de l'IR par modélisation ne prend pas en compte les interactions entre polluants (synergies ou antagonismes) excepté sous l'hypothèse conservatrice d'additivité complète des risques associés au mélange (limitation non spécifique à TerraSys® mais commune à l'ensemble des logiciels d'évaluation des risques écotoxicologiques et des risques pour la santé humaine) • Pas de lien direct entre l'indice de risque calculé par TerraSys® et le concept de la qualité biologique des sols (Fig. 9.5.) 	<ul style="list-style-type: none"> • Outil d'évaluation des risques écotoxicologiques associés à des sols (potentiellement) pollués • Prise en compte des relations biotiques et abiotiques existant dans l'écosystème pris dans son ensemble • Prise en compte des concentrations compartimentales mesurées (possibilité de « court-circuiter » la modélisation des concentrations compartimentales) • Prise en compte des effets directs et indirects d'une pollution • Logiciel sous-tendu par l'intégration de différents modèles mathématiques validées (excepté module larvaire) • Bases de données pouvant être implémentées aisément avec des données écotoxicologiques issues de la littérature et/ou des résultats de biotests • Protocoles de biotests inclus dans le logiciel • Fournit une appréciation du niveau de confiance associé au résultat final de calcul de risque • Interface convivial 	<ul style="list-style-type: none"> • TerraSys® peut être utilisé à une échelle plus large que celle d'un terrain dans la limite de la définition: <ul style="list-style-type: none"> - du bassin versant - de la région climatique du type de sol <p>En termes de sols pollués</p> <ul style="list-style-type: none"> • Prise en compte des micro-organismes et processus microbiens est possible à condition de compléter la base de données avec la réalisation de biotests (actuellement peu de références bibliographiques pour les indicateurs écotoxicologiques et données écotoxicologiques brutes) <p>En termes de qualité biologique des sols</p> <ul style="list-style-type: none"> • Exploitation de la base de données relative aux indicateurs écotoxicologiques et comparaison avec les données de la qualité chimique des sols en Wallonie permettant la mise en évidence de zones (potentiellement) à risque (pour un récepteur défini)

Tableau 9.4. Synthèse des limitations, intérêts et potentialités d'exploitation du logiciel TerraSys®

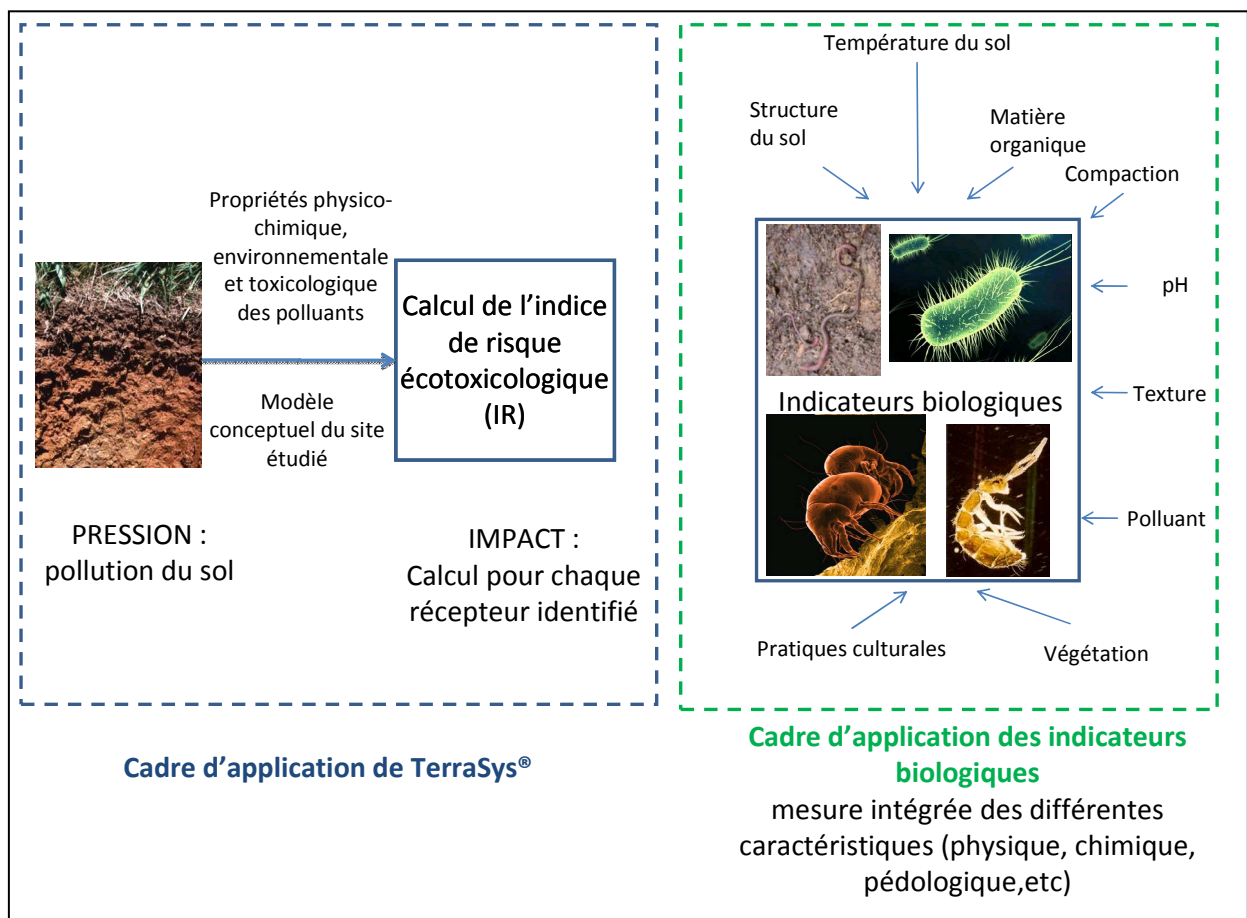


Figure 9.5. Comparaison des cadres d'application du logiciel TerraSys et des indicateurs biologiques

10. Conclusions et perspectives

Cette étude a permis d'établir un premier état des lieux synthétique sur l'utilisation des indicateurs biologiques de la qualité des sols. L'originalité de l'étude réside dans la synthèse de la thématique vue, en parallèle, sous deux approches différentes. D'une part, une revue de la littérature scientifique internationale a fourni l'information scientifique récente concernant les indicateurs biologiques, leurs limites et domaines d'application. D'autre part, l'établissement d'un état des lieux des outils d'évaluation de la qualité biologique des sols dans les pays/régions voisins a permis de se rendre compte de la diversité des indicateurs utilisés et des stades d'avancement de réseaux de surveillance extrêmement variables, voire non-existants. La confrontation des deux approches a permis de pré-sélectionner six indicateurs biologiques intéressants pour un suivi de la qualité biologique des sols en Wallonie.

L'importance de positionner l'étude dans un cadre défini s'est imposée rapidement au cours du travail. Pourquoi et comment surveiller la qualité biologique des sols ? Le concept des 'services écosystémiques' tels que définis par 'l'Evaluation des Ecosystèmes pour le Millénaire' est apparu comme un cadre très utile. Les services écosystémiques sont les bénéfices (biens et services) fournis par les écosystèmes, nécessaires au bien-être de l'homme. Le sol fournit de nombreux services écosystémiques et, dans le cadre de l'étude de la qualité biologique des sols, nous devons prendre en considération les processus ainsi que les éléments biologiques du sol liés aux services écosystémiques essentiels pour un type d'usage de sol donné (agricole, forestier, urbain). Le sol est, en effet, un milieu très diversifié contenant des organismes de diverses tailles (microflore, micro-, méso- et macrofaune) assurant et régulant de nombreux processus impliqués dans divers services écosystémiques tels que la dynamique de la structure du sol, les cycles biogéochimiques, la décomposition de la matière organique, les flux d'eau, la détoxification des sols. Les indicateurs de la qualité des sols ont ainsi été sélectionnés en fonction de leur importance dans les services écosystémiques fournis par les sols.

L'état des lieux des outils d'évaluation de la qualité biologique des sols dans les pays/régions voisins a montré la multiplicité des démarches en Europe pour la prise en compte de la qualité biologique du sol. On y trouve des réseaux nationaux fonctionnels (Pays-Bas, depuis 1997 ; Suisse, sur le point d'aboutir), des systèmes de surveillance en développement en phase de test (France, Royaume-Uni, Allemagne, Italie), des systèmes de surveillance régionaux (certains Länder en Allemagne et cantons en Suisse) et des systèmes de surveillance thématiques (comme par exemple le réseau ERESFOR, en France, pour le suivi de l'impact des épandages de boues résiduaires en milieu boisé). Il faut cependant noter que globalement, l'utilisation des paramètres biologiques reste limitée et que, en absence de concertation établie à l'échelle européenne, les paramètres suivis sont très variables et dépendent notamment des objectifs stratégiques spécifiquement poursuivis par les réseaux mis en place.

En intégrant les données acquises au cours de notre recherche bibliographique et celles acquises au cours de l'état des lieux des outils d'évaluation de la qualité biologique des sols dans les pays/régions voisins, il est apparu que les paramètres microbiens sont plus fréquemment employés comme indicateurs biologiques de la qualité du sol que les paramètres faunistiques. En effet, actuellement, seuls les Pays-Bas, précurseur dans le domaine, ont un suivi national des sols, à la fois au niveau des paramètres microbiens et faunistiques. Notons que l'utilisation d'indicateurs faunistiques nécessite, outre un investissement en temps important, la disponibilité d'experts en taxonomie. C'est pourquoi, après considération de la pertinence, de l'applicabilité et des contraintes méthodologiques inhérentes à l'étude des différents paramètres du sol, nous préconisons majoritairement l'emploi des paramètres microbiens suivants comme indicateurs de la qualité biologique des sols : la biomasse microbienne, la respiration basale, les indices écophysologiques, la minéralisation nette de l'azote, la diversité fonctionnelle, ainsi que le nombre et la biomasse des vers de terre. Ces indicateurs pré-sélectionnés sont pertinents si l'on se réfère aux types d'usage des sols en Wallonie, c'est à dire l'agriculture (terres cultivées, prairies et vergers) et la sylviculture.

Nous avons également analysé la faisabilité d'utilisation du logiciel TerraSys dans le cadre de notre travail. Notons que le cadre d'utilisation de ce logiciel et le concept des indicateurs biologiques de la qualité du sol répondent à des besoins différents : TerraSys évalue l'impact d'une pollution sur certains organismes cibles d'un sol, alors que les indicateurs biologiques reflètent les caractéristiques physiques, chimiques (y compris une pollution le cas échéant) et pédologiques du milieu. Par conséquent, l'indicateur biologique est une mesure intégrée de la qualité du milieu, alors que TerraSys évalue un risque écotoxicologique.

Afin de développer des outils pertinents dans l'étude de la qualité biologique des sols en Wallonie, cette étude nous a démontré la nécessité de disposer d'un cadre stratégique clair au niveau de la politique sur les sols, permettant l'élaboration d'un outil répondant aux attentes du législateur et de la société. L'approfondissement de l'étude amorcée ici dépend en effet des finalités visées. Ainsi, le développement des outils et des approches n'est pas le même dans le cadre de la mise en place d'un réseau de surveillance ou de l'évaluation de l'efficacité de la dépollution d'un sol par exemple.

Nous pouvons néanmoins déjà dégager les perspectives suivantes :

- L'interprétation des mesures des paramètres biologiques requiert la constitution d'un référentiel de valeurs de base tenant compte du type de sol/du type d'usage des sols en Wallonie. Pour cela, ces paramètres doivent être mesurés dans un certain nombre de sols, représentatifs pour la Wallonie (prairie, champs, forêt, sol urbain), idéalement dans le cadre d'un réseau de suivi des paramètres biologiques. Si un tel réseau doit être créé, il serait judicieux de réaliser ce suivi sur des combinaisons type de sol/type d'usage prévalant en Wallonie et en échantillonnant des sites pour lesquels des données physico-chimiques et pédologiques sont disponibles, afin de pouvoir corrélérer ces divers paramètres. L'élaboration d'un réseau de surveillance passe typiquement par plusieurs étapes : définition des objectifs du réseau de surveillance, propositions d'indicateurs (relevés bibliographiques), étape de pré-sélection de ces indicateurs, test de ces indicateurs et acquisitions de données de base (valeur de référence).
- Alors que les méthodes de mesure sont bien établies pour certains paramètres (avec norme ISO), des approches diverses sont rencontrées pour d'autres paramètres (notamment en ce qui concerne la diversité métabolique). Une étude comparative des techniques utilisées (solution d'extraction, stockage des échantillons, etc.) permettrait une standardisation de l'approche.
- Afin de disposer des informations plus précises sur la sensibilité des indicateurs aux changements, des études en laboratoire sous différentes conditions (température, disponibilité de carbone, etc.) pourraient être effectuées. Par ailleurs, la sensibilité des indicateurs vis-à-vis des variations environnementales doit être suffisante pour refléter l'influence de ces variations sur les caractéristiques du sol à long terme mais pas trop afin de ne pas indiquer des variations mineures attribuables aux variations journalières. Peu de données sont actuellement disponibles dans la littérature concernant ce sujet. Il serait avisé d'acquérir des données permettant d'accroître nos connaissances concernant la dynamique saisonnière des indicateurs biologiques vis-à-vis des facteurs environnementaux afin de pouvoir sélectionner les périodes propices à l'échantillonnage.
- Dans le cadre d'une évaluation du risque écotoxicologique (logiciel Terra-Sys) et/ou un suivi de dépollution des sols, des études en laboratoire sont à recommander afin d'établir des courbes doses-réponses entre les polluants fréquemment rencontrés en Wallonie et les indicateurs pré-sélectionnés. Une approche sur le terrain, mesurant comparativement les indicateurs sous condition polluée et non-polluée devrait compléter cette étude.
- Ce rapport souligne que des lacunes persistent concernant le lien entre la diversité et la fonction. Des approches et/ou des études multidisciplinaires sont nécessaires afin de mieux appréhender le lien entre la diversité dans les sols et les fonctions remplies par celle-ci dans le cadre des services écosystémiques fournis par le sol. Les recherches qui tentent d'éclaircir cette relation doivent être menées afin de pouvoir mieux appréhender l'impact des perturbations anthropiques sur le fonctionnement des écosystèmes.

Sur le plan opérationnel des perspectives tracées par le Plan d'Environnement pour le Développement Durable de 1994, qui prévoit « d'améliorer la connaissance et le suivi de la qualité des sols », il ressort de la revue d'état des lieux que la mise en œuvre fonctionnelle d'un réseau de mesures biologique cohérent est un processus lent, qui peut s'étaler sur 10 à 15 années. Cependant, les expériences – notamment en Grande-Bretagne – montrent également que les programmes de monitoring peuvent aussi s'initier de façon relativement simple, avec un nombre limité d'indicateurs et de points de mesure, et se complexifier par la suite en intégrant les résultats des efforts de recherche et pour la standardisation des méthodes. Une des conclusions du groupe de travail TWG4 mis en place pour la préparation de la directive cadre sur les sols, et qui peut être reprise à l'issue notre étude, est ainsi « qu'il faut réaliser que pour faire des progrès en matière de surveillance et pour la compréhension de la complexité des fonctionnements de la composante biologique des sols il est avant tout nécessaire de commencer ».

Sur base des éléments fournis conjointement à l'issue du travail d'analyse des indicateurs de la littérature et de l'état des lieux dans les pays et régions voisins, il est possible désormais de définir les principes d'un réseau minimum de démarrage et de définir les bases et méthodes de travail à développer par la suite pour consolider et étendre ce premier réseau.

Bibliographie

- Aboim, M.C.R., Coutinho, H.L.C., Peixoto, R.S., Barbosa, J. C., Rosado, A.S., 2008. Soil bacterial community structure and soil quality in a slash-and-burn cultivation system in Southeastern Brazil. *Applied Soil Ecology* 38, 100-108.
- Abril, A., Caucás, V., Bucher E.H., 2001. Reliability of the in situ incubation methods used to assess nitrogen mineralization : a microbiological perspective. *Applied Soil Ecology* 17, 125-130.
- Akkermans, A.D.L., van Elsas, J.D., De Bruijn, F.J., 1995. *Molecular Microbial Ecology Manual*. Kluwer Academic, Dordrecht, the Netherlands.
- Alarcón-Gutiérrez, E., Couchaud, B., Augur C., Calvert, V., Criquet, S., 2008. Effects of nitrogen availability on microbial activities, densities and functional diversities involved in the degradation of a Mediterranean evergreen oak litter (*Quercus ilex* L.). *Soil Biology and Biochemistry* 40, 1654-1661
- Anderson, J.P.E., Domsch, K.H., 1978. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 10, 215-221.
- Anderson, J.P.E., 1982. Soil respiration. In : Page, A.L. *et al.* (eds). *Method of Soil Analysis, Part 2, Chemical and Microbiological Properties*. Agronomy Monograph, Madison, Wisconsin, pp. 831-871.
- Anderson, T.H., Domsch, K.H., 1985. Determination of ecophysiological maintenance carbon requirements of soil microorganisms in a dormant state. *Biology and Fertility of Soils* 1, 81-89
- Anderson, J.P.E., Domsch, K.H., 1990. Application of eco-physiological quotients (qCO_2 and qD) on microbial biomass from soils of different cropping histories. *Soil Biology & Biochemistry* 22, 251-255.
- Andre, H.M., Ducarme, X., Lebrun, Ph, 2002. Soil biodiversity: myth, reality or conning? *Oikos* 96, 3-24.
- Andre, H. M., 2006. La biodiversité dans les sols en Région Wallonne : dossier scientifique réalisé dans le cadre de l'élaboration du Rapport analytique 2006 sur l'état de l'environnement wallon. Musée Royale de l'Afrique centrale, Tervuren, 44pp.
- Andreoni, V., Cavalca, L., Rao, M. A., Nocerino, G., Bernasconi, S., Dell'Amico, E., Colombo, M., Gianfreda, L., 2004. Bacterial communities and enzyme activities of PAHs polluted soils. *Chemosphere* 57, 401-412.
- Arrouays, D., Jolivet, Cl., Boulonne, L., Bodineau, G., Ratié, C., Saby, N., Grolleau, E. 2003. Le Réseau des mesures de la qualité des sols (RMQS) de France, Etude et Gestion des sols 10, 241-250.
- Arrouays D., Morvan, X. Saby, N.P.A., Richer de Forges, A., Le Bas, C., Bellamy, P.H., Berényi, J., ÜvegesFreudenschuß, A., Jones, A.R., Jones, R.J.A., Kibblewhite, M.G., Simota, C., Verdoodt, A., Verheijen F.G.A. 2008. Environmental Assessment of Soil for Monitoring : Volume IIa Inventory & Monitoring. EUR 23490 EN/2A, Office for the Official Publications of the European Communities, Luxembourg, 188 pp.
- Arroyo, J., Iturrondobeitia, J.C., 2006 Differences in the diversity of oribatid mite communities in forests and agrosystems lands. *European Journal of Soil Biology* 42, 259-269.
- Aspetti, G.P., Boccelli, R., Ampollinni, D., Del Re, A., Capri, E., 2010. Assessment of soil-quality index based on microarthropods in corn cultivation in Northern Italy. *Ecological Indicators* 10, 129-135.
- Avidano, L., Gamalero, E., Cossa, G. P., Carraro, E., 2005. Characterization of soil health in an Italian polluted site by using microorganisms as bioindicators. *Applied Soil Ecology* 30, 21-33.
- Barbercheck, M.E., Neher, D.A., Anas, O., El-Allaf, S.M., Weicht, T.R., 2009. Response of soil invertebrates to disturbance across three resource regions in North Carolina. *Environmental Monitoring and Assessment* 152, 283-298.
- Balser, T.C., 2000. Linking microbial diversity and function, PhD thesis, university of California, Bekerley, 220 pp.
- Baran, S., Bielinska, J. E., Oleszczuk, P., 2004. Enzymatic activity in an airfield soil polluted with polycyclic aromatic hydrocarbons. *Geoderma* 118, 221-232.
- Baretta, D., Baretta, C., Cardoso, E., 2008. Multivariate analysis of soil microbiological and chemical attributes in forest with *Araucaria Angustifolia*. *Revista Brasileira De Ciencia Do Solo* 32, 2683-2691.
- Barrios, E., 2007. Soil biota, ecosystem services and land productivity. *Ecological Economics* 64, 269-285.
- BodSchG, 1998. Gesetz zum Schutz von schädlichen Bodenveränderungen und zur Sanierung von Altlasten (Bundes-Bodenschutzgesetz). *Bundesgesetzblatt I*, 502 vom 17. März 1998.
- Bhattacharyya, P., Tripathy, S., Kim, K., Kim, S.-H., 2008. Arsenic fractions and enzyme activities in arsenic-contaminated soils by groundwater irrigation in West Bengal. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 71, 149-156.
- Benedetti, A., Mocali, S., Pompili, L., Mellina, A.S., 2008. Definire la biodiversità del suolo: difficile, ma non impossibile. Proc. Workshop "biodiversity of Italian soils : indicators and their implementation towards a national legislation". Roma.
- Berthold, A., Palzenberger, M., 1995. Comparison between direct counts of active soil ciliates (Protozoa) and most probable number estimates obtained by Singh's dilution culture method. *Biology and Fertility of Soils* 19, 348-356.

Bhogal, A., Nicholson, F.A., Chambers, B.J., 2009. Organic carbon additions : effects on soil bio-physical and physico-chemical properties. *European Journal of Soil Science* 60, 276-286.

Biederbeck, V.O., Campbell, C.A., Zentner, R.P., 1984. Effect of crop rotation and fertilization on some biological properties of a loam in southwestern Saskatchewan. *Canadian Journal of Soil Sciences* 64, 355-367.

Biederbeck, V.O., Zentner, R.P., Campbell, C.A., 2005. Soil microbial populations and activities as influenced by legume green fallow in a semiarid climate. *Soil Biology and Biochemistry* 37, 1775-1784.

Black, H., Garnett, J S, Ainsworth, G, Coward, P A, Creamer, R, Ellwood, S., Horne, J., Hornung, M., Kennedy, V. H., Monson, F., Raine, L., Osborn, D., Parekh, N. R., Parrington, J., Poskitt, J.M., Potter, E., Reeves, N., Rowland, A.P., Self, P., Turner, S., Watkins, J., Woods, C, Wright, J., 2002. MASQ : Monitoring and Assessing Soil Quality in Great Britain. Countryside Survey Module 6 : Soils and Pollution.

Blair, J.M., Parmelee, R.W., Lavelle, P., 1995. Influences of earthworm on biogeochemistry. In : Hendrix, P.F. (ed). *Earthworm Ecology and Biogeography in North America*. Lewis, Boca Raton, pp. 127-158

Bongers, T., 1990. The maturity index: an ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition. *Oecologia* 83, 14-19.

Boyd, James & Banzhaf, H. Spencer, 2005. [The Architecture and Measurement of an Ecosystem Services Index](#). Resources For the Future, 54 pp.

Branzini, A., Zubillaga, M. S., Zubillaga, M. M., 2009. Microbial response to the application of amendments in a contaminated soil with trace elements. *American Journal of Environmental Sciences* 5, 735-739.

Breure, A.M., Mulder, C., Rutgers, M., Schouten, T., de Zwart, D., Bloem J., 2003. A Biological Indicator for Soil Quality. In : Francaviglia R. (Ed.) *Agricultural Impacts on Soil Erosion and Soil Biodiversity: Developing Indicators for Policy Analysis*. Proceedings from an OECD Expert Meeting. Rome, Italy, pp. 485-494.

Brown, T.C., Bergstrom, J.C., Loomis J.B., 2006. Ecosystem goods and services: definition, valuation, and provision. USDA Forest Service RMRS-RWU-4851 Discussion Paper, May 31, 2006. Available at http://www.fs.fed.us/rm/value/docs/ecosystem_goods_services.pdf

Brussaard, L., Kuyper, T.W., Didden, W.A.M., de Goede, R.G.M., Bloem, J. 2004. Biological soil quality from biomass to biodiversity - importance and resilience to management stress and disturbance. In: Schjønnning, P.; Elmholt, S., Christensen, B.T. (eds.). *Managing soil quality: Challenges in modern agriculture*. CAB International, Wallingford, UK., pp. 139-161.

Bürgmann, H., Widmer, F., Sigler, W.V., Zeyer, J., 2003. mRNA extraction and reverse transcription-PCR protocol for detection of *nifH* gene expression by *Azotobacter vinelandii* in soil. *Applied and Environmental Microbiology* 6, 1928-1935

Burman, R., Pochop, L.O., 1994. *Evaporation, evapotranspiration and climatic data*. Elsevier Science B.V., Netherlands.

Canali, S., Benedetti, A., 2006. Soil Nitrogen Mineralization. In : Bloem, J., Hopkins, D.W., Benedetti, A. (eds) *Microbiological Methods for assessing Soil Quality*, CAB International, UK, pp. 127-135.

Cavigelli, M., Robertson, G.P., 2000. The functional significance of denitrifier community composition in a terrestrial ecosystem. *Ecology* 81, 1402-1414.

Černohlávková, J., Jarkovský^a, Nešporová, J.M., Hofman, J., 2009. Variability of soil microbial properties: Effects of sampling, handling and storage. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72, 2102-2108

Cesarz, S., Fahrenholz, N., Migge-Kleian, S., Platner, C., Schaefer, M., 2007. Earthworm communities in relation to tree diversity in a deciduous forest. *European Journal of Soil Biology* 43, S61-S67

Chaer, G.M., Myrold, D.D., Bottomley, P.J., 2009. A soil quality index based on the equilibrium between soil organic matter and biochemical properties of undisturbed coniferous forest soils of the Pacific Northwest. *Soil Biology and Biochemistry* 41, 822-830.

Chapman, S.J., Campbell, C.D., Edwards, A.C., McHenery, J.G., 2000. Assessment of the potential of new biotechnology environmental monitoring techniques. Report no. SR (99) 10F, Macaulay Research and Consultancy Services, Aberdeen.

Chapman, S. J., Campbell, C. D., Puri, G., 2003. Native woodland expansion: soil chemical and microbiological indicators of change. *Soil Biology and Biochemistry* 35, 753-764.

Coleman, D.C., Crossley, D.A., Hendrix, P.F., 2004. *Fundamentals of Soil Ecology*, second edition, Elsevier, USA, 386 pp.

Costanza, R., d'Arge, R., de Groot, R., Farber, S., Grasso, M., Hannon, B., Limburg, K., Naeem, S., O'Neill, R.V., Paruelo, J., Raskin, R.G., Sutton, P., van den Belt, M., 1997. The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature* 386, 253-260.

Costanza, R., 2008. Ecosystem services: Multiple classification systems are needed. *Biological Conservation* 141, 350-352.

Cortet, J., Gomot-De Vaufleury, A., Poinso-Balaguer, N., Gomot, L., Texier, C., Cluzeau, D., 1999. The use of invertebrate soil fauna in monitoring pollutant effects. *European Journal of Soil Biology* 35, 115-134.

Crossley, D.A., Mueller, B.R., Perdue, J.C., 1992. Biodiversity of microarthropods in agricultural soils : relations to processes. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 40, 37-46.

Crouzet, O., Batisson, I., Besse-Hoggan, P., Bonnemoy, F., Bardot, C., Poly, F., Bohatier, J., Mallet, C., 2010. Response of soil microbial communities to the herbicide mesotrione : A dose-effect microcosm approach. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 193-202.

Daily, G.C., Polasky, S., Goldstein, J., Kareiva, P.M., Mooney, H., Pejchar, L., Ricketts, T.H., Salzman, J., Shallenberg, R., 2009. Ecosystem services in decision making: time to deliver. *Frontiers in Ecology and Environment* 7, 21-28.

Dawson, J.J.C., Godsiffe, E.J., Thompson, I.P., Ralebitso-Senior, T.K., Killham, K.S., Paton, G.I., 2007. Application of biological indicators to assess recovery of hydrocarbon impacted soils. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 164-177.

de Groot, R., Wilson, M., Boumans, R., 2002. A typology for the classification, description and valuation of ecosystem functions, goods and services. *Ecological Economics* 41, 393-408.

Dequiedt, S., Lelièvre, M., Jolivet, C., Saby, N.P.A., Martin, M., Thioulouse, J., Maron, P.A., Mouge, C., Chemidlin, N., Prévost-Bouré, Arrouays, D., Lemanceau, P., Ranjard, L.; 2009. ECOMIC-RMQS biogéographie microbienne à l'échelle de la France. Etat d'avancement et premiers résultat. *Gestion et Etude des sols* 16 (3/4), 219-231

Dick, R.P., 1994. Soil enzymes activities as indicator of soil quality. In: Doran, J.V., Coleman, D.C., Bezdicsek, D.F. and Stewart, B.A. (eds) *Defining Soil Quality for a Sustainable Environment*, Soil Science Society of America, American Society of Agriculture, Madison, pp. 107-124

Dilly, O., Munch, J.C., 1998. Ratios between estimates of microbial biomass content and microbial activity in soils. *Biology and Fertility of Soils* 27, 374-379.

Dinesh, R., Srinivasan, V., Hamza, S., Manjusha, A., 2010. Short-term incorporation of organic manures and biofertilizers influences biochemical and microbial characteristics of soils under an annual crop [Turmeric (*Curcuma longa* L.)]. *Bioresource Technology* 101, 4697-4702.

Doran, J.W., Parkin, T.B., 1994. Defining and assessing soil quality. In : Doran, J.W. Coleman, D.C. Bzedicek D.F., Steward, B.A. (eds.). *Defining Soil Quality for a Sustainable Environment* Soil Science Society of America, pp. 3-21

Doran, J.W., Safley, M., 2002. Defining and assessing soil health and sustainable productivity. Dans : Pankhurst C.E, Doube, B.M., Gupta, V.V.S.R.(Eds) *Biological indicators of soil health*, CAB International, UK, pp. 1-28.

Doran, J.W., Sarrantonio, M., Liebig, M.A., 1996. Soil health and sustainability. In : Sparks D. L. (ed) *Advances in Agronomy, advances in Agronomy* , San Diego, 56, 1-54.

Doube, B.M., Schmidt, O., 1997. Can the abundance and activity of soil macrofauna be used to indicate the biological health of soils? In: Pankhurst, C.E., Doube, B.M., Gupta, V.V.S.R. (eds) *Biological Indicators of Soil Health*, CAB Publishing, Wallingford, pp. 265-295.

Ducarme, X., Andre, H.M., Wauthy, G., Lebrun, Ph., 2004. Comparaison of endogenic and cave communities : microarthropods density and mites richness. *European Journal of Soil Biology* 40, 129-138.

Edwards, C.A., Fletcher, K.E., 1971. A comparison of extraction methods for terrestrial arthropods. In: Phillipson, J. (ed.). *Methods of Study in Quantitative Soil Ecology : Population, Production and Energy Flow*, IBP No.18, Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp. 150-185

Efroymson, R.A., Will, M. E., Suter II, G.W., 1997. Toxicological Benchmarks for Pollutants of Potential Concern for Effects on Soil and Litter Invertebrates and Heterotrophic Process : Revision Document ES/ER/TM-126/R2, 151 pp.

Eijsackers, H. 2004. Leading concepts towards vital soil. In: Doelman, P., Eijsackers, H.(eds) *Vital Soil: Function, Value, and Properties*. Developments in Soil Science, 29. Elsevier, Amsterdam, pp. 1-20.

Elliot, E.T., Coleman, D.C., Ingham, R.E., Trofymow, J.A., 1984. Carbon and energy flow through microflora and microfauna in the soil subsystem of terrestrial ecosystems. In: Klug, M.J., Reddy, C.A. (eds.). *Current Perspectives in Microbial Ecology*. American Society of Microbiology, Washington, DC, pp. 424-433

Ekenler, M., Tabatabai, M.A., 2004. Arylamidase and amidohydrolases in soils as affected by liming and tillage systems. *Soil and Tillage Research* 77, 157-168.

Epelde, L., Hernández-Allica, J., Becerril, J. M., Blanco, F., Garbisu, C., 2008. Effects of chelates on plants and soil microbial community: Comparison of EDTA and EDDS for lead phytoextraction. *Science of the Total Environment* 401, 21-28.

Epelde, L., Becerril, J. M., Barrutia, O., González-Oreja, J. A., Garbisu, C., 2010). Interactions between plant and rhizosphere microbial communities in a metalliferous soil. *Environmental Pollution* 158, 1576-1583.

Epelde, L., Becerril, J.M., Barrutia, O., González-Oreja, J.A., Garbisu, C., 2010. Interactions between plant and rhizosphere microbial communities in a metalliferous soil. *Environmental Pollution* 158, 1576-1583.

Fernandes, S. A. P., Bettiol, W., Cerri, C. C., 2005. Effect of sewage sludge on microbial biomass, basal respiration, metabolic quotient and soil enzymatic activity. *Applied Soil Ecology* 30, 65-77.

Fischer, S.G., Lerman, L.S., 1983. DNA fragments differing by single base-pair substitutions are separated in denaturing gradient gels : correspondence with melting theory. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 80, 1579-1583.

Fisher, B., Turner, R.K., 2008. Ecosystem services: Classification for valuation. *Biological Conservation* 141, 1167-1169.

Foissner, W., 1987. Soil protozoa : fundamental problems, ecological significance, adaptations in ciliates and testaceans, bioindicators and guide to the literature. *Progress in Protistology* 2, 69-212.

Foissner, W., 1999. Soil protozoa as bioindicators : pros and cons, methods, diversity, representative examples. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 74, 95-112.

Freschet, G. T., Masse, D., Hien, E., Sall, S., Chotte, J. L., 2008. Long-term changes in organic matter and microbial properties resulting from manuring practices in an arid cultivated soil in Burkina Faso. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 123, 175-184.

Gardi, M., Tomaselli, V., Parisi, A., Petraglia, C., Santini, 2002. Soil quality indicators and biodiversity in northern Italian permanent grasslands. *European Journal of Soil Biology* 38, 103-110.

Gardi, C., Montanarella, L., Arrouays, D., Bispo, A., Lemonceau, P., Jolivet, C., Mulder, C., Ranjard, L., Römbke, J., Rutgers, M., Menta C., 2009. Soil biodiversity monitoring in Europe : ongoing activities and challenges. *European Journal of Soil Science*, 60, 807-819.

Gartzia-Bengoetxea, N., Gonzalez-Arias, A., Kandeler, E., de Arano, I. M., 2009. Potential indicators of soil quality in temperate forest ecosystems: a case study in the Basque Country. *Annals of Forest Science* 66, 303 .

Gianfreda, L., Ruggiero, P., 2006. Enzyme activities in soil. In: Nannipieri, P., Smalla, K. (eds) *Nucleic Acid and Protein in soil*, Springer-Verlag, Berlin, pp. 257-311.

Gianfreda, L., Antonietta Rao, M., Piotrowska, A., Palumbo, G., Colombo, C., 2005. Soil enzyme activities as affected by anthropogenic alterations : intensive agricultural practices and organic pollution. *Science of the Total Environment* 341, 265-279.

Gomez, E., Bisaro, V., Conti, M., 2000. Potential C-source utilization patterns of bacterial communities as influenced by clearing and land use in a vertic soil of Argentina. *Applied Soil Ecology* 15, 273-281

Gomez, E., Garland, J., Conti, M., 2004. Reproducibility in the response of soil bacterial community-level physiological profiles from a land use intensification gradient. *Applied Soil Ecology* 26, 21-30.

González-Chávez, M.D.C.A., Aitkenhead-Peterson, J.A., Gentry, T.J., Zuberer, D., Hons, F., Loeppert, R., 2010. Soil microbial community, C, N, and P responses to long-term tillage and crop rotation. *Soil and Tillage Research* 106, 285-293.

Griffiths, B.S., 1994. Microbial-feeding nematodes and protozoa in soil: Their effects on microbial activity and nitrogen mineralization in decomposition hotspots and the rhizosphere. *Plant and Soil* 164, 25-33.

Griffiths, B.S., Ritz, K., Wheatley, R., Kuan, H.L., Boag, B., Christensen, S., Ekelund, F., Sorensen, S.J., Muller, S., Bloem, J., 2001. An examination of the biodiversity-ecosystem function relationship in arable soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry* 33, 1713-1722

Guerrero, C., Moral, R., Gómez, I., Zornoza, R., Arcenegui, V. 2007. Microbial biomass and activity of an agricultural soil amended with the solid phase of pig slurries. *Bioresource Technology* 98, 3259-3264.

Haack, S.K., Garchow, H., Klug, M.J., Forney, L.J., 1995. Analysis of factors affecting the accuracy, reproducibility, and interpretation of microbial community carbon source utilizations. *Applied and Environmental Microbiology* 61, 1458-1468.

Hågvar, S., 1994. Log-normal distribution of dominance as an indicator of stressed soil microarthropods communities. *Acta Zoologica Fennica* 195, 71-80

Hart, S.C., Stark, J.M., Davidson, E.A., Firestone, M.K., 1994. Nitrogen mineralization, immobilisation and nitrification. In: Weaver, R.W., Angle, J.S., Bottomley, P.S. (eds) *Methods of Soil Analysis. Part 2. Microbial and Biogeochemical Properties*, Soil Science Society of America, Madison, pp. 985-1018

Hawkes, C.V., Wren, I.F., Herman, D.J., Firestone, M.K., 2005. Plant invasion alters nitrogen cycling by modifying the soil nitrifying community. *Ecology Letters* 8, 976-985.

Haygarth, P.M., Ritz, K., 2009. The future of soils and land use in the UK: soil systems for the provision of land-based ecosystem services. *Land Use Policy* 26, S187-S197.

Hendrix, P.F., Crossley, D.A., Blair, J.M., Coleman, D.C., 1990. Soil biota as components of sustainable agroecosystems. In: Edwards, C.A., Lal, R., Madden, P., Miller, R.H., House, G. (eds). *Sustainable Agricultural Systems*. Soil and water Conservation Society, Iowa, pp. 637-654.

Hernández, D., Fernández, J.M., Plaza, C., Polo, A., 2007. Water-soluble organic matter and biological activity of a degraded soil amended with pig slurry. *Science of the Total Environment* 378, 101-103.

Hinojosa, M.B., Carreira, J.A., Rodríguez-Maroto, J.M., García-Ruiz, R., 2008. Effects of pyrite sludge pollution on soil enzyme activities: Ecological dose-response model. *Science of the Total Environment* 396, 89-99.

Höper, H., 2006. Substrate-induced respiration. In: Bloem, J., Hopkins, D.H., Benedetti, A. (eds), *Microbiological Methods for Assessing Soil Quality*, CABI Publishing, Wallingford, UK, pp. 84-92.

Howarth, W.R., Paul, E.A., 1994. Microbial Biomass. In: Weaver, R.W., Angle, J.R., Bottomley, P.S., (Eds). *Methods of Soil Analysis. Part 2. microbiological and biochemical properties*. SSSA, Madison, pp. 753-773.

Huber, S., Prokop, G., Arrouays, D., Banko, G., Bispo, A., Jones, R.J.A., Kibblewhite, M.G., Lexer, W., Möller, A., Rickson, R.J., Shishkov, T., Stephens, M., Toth, G., Van den Akker, J.J.H., Varallyay, G., Verheijen, F.G.A., Jones A.R., 2008. *Environmental Assessment of Soil for Monitoring: Volume I Indicators & Criteria*. EUR 23490 EN/1, Office for the Official Publications of the European Communities, Luxembourg, 339 pp.

Huybens, N., Mainil, J., Marlier, D., 2009. Les techniques de biologie moléculaire d'analyse des populations bactériennes complexes. *Annals de Médecine Vétérinaire* 153, 112-128.

Insam, H., Goberna, M., 2004. Community level physiological profiles (Biolog substrate use tests) of environmental samples In: Akkermans, A.D.L., Van Elsas, J.D., DeBruijn, F.J. (eds), *Molecular Microbial Ecology Manual*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp.1-8

Izquierdo, I., Caravaca, F., Alguacil, M.M., Hernandez, G., Roldan, A., 2005. Use of microbiological indicators for evaluating success in soil restoration after revegetation of a mining area under subtropical conditions. *Applied Soil Ecology* 30, 3-10

Jenkinson, D.S., Ladd, J.N., 1981. Microbial biomass in soil : measurement and turnover. In: Paul, E.A., Ladd, J.N. (eds), *Soil Biochemistry* (Vol. 5). Marcel Decker, New York, pp. 415-471.

Jeffery, S., Gardi, C., Jones, A., Montanarella, L., Marmo, L., Miko, L., Ritz, K., Römbke, J., van der Putten, W.H., 2010. *European Atlas of Soil Biodiversity*. European Commission, Publication Office of the European Union, Luxembourg, 128 pp.

Jia, G.-M., Liu, B.-R., Wang, G., Zhang, B., 2010. The microbial biomass and activity in soil with shrub (*Caragana korshinskii* K.) plantation in the semi-arid loess plateau in China. *European Journal of Soil Biology* 46, 6-10.

Jokela, W.E., Grabber, J.H., Karlen, D.L., Balser, T.C., Palmquist, D.E., 2009. Cover crop and liquid manure effects on soil quality indicators in a corn silage system. *Agronomy Journal* 101, 727-737.

Jordan, D., Miles, R. J., Hubbard, V. C., Lorenz, T., 2004. Effect of management practices and cropping systems on earthworm abundance and microbial activity in Sanborn Field : a 115-year-old agricultural field. *Pedobiologia* 48, 99-110.

Kara, O., Bolat, I., 2009. Short-term effects of wildfire on microbial biomass and abundance in black pine plantation soils in Turkey. *Ecological Indicators* 9, 1151-1155.

Karl, D.M., 1980. Cellular nucleotide measurements and application in microbial ecology. *Microbial Review* 44, 739-796.

Karlen, D.L., M.J. Mausbach, J.W. Doran, R.G. Cline, R.F. Harris and G.F. Schumann, 1997. Soil quality : a concept, definition and framework for evaluation. *Soil Science Society of America Journal* 61, 4-10.

Kaur, A., Chaudhary, A., Kaur, A., Choudhary, R., Kaushik, R., 2005. Phospholipid fatty acid- a bioindicator of environment monitoring and assessment in soil ecosystem. *Current Science* 89, 1103-1112.

Kibblewhite, M.G., Jones, R.J.A., Montanarella, L., Baritz, R., Huber, S., Arrouays, D., Micheli, E., Stephens, M., 2008. *Environmental Assessment of Soil for Monitoring Volume VI: Soil Monitoring System for Europe*. EUR 23490 EN/6, Office for the Official Publications of the European Communities Luxembourg, 72 pp.

Kirk, J.L., Beaudette, L.A., Hart, M., Moutoglis, P., Klironomos, J.N., Lee, H., Trevors, J.T., 2004. Methods of studying soil microbial diversity. *Journal of Microbiology Methods* 58, 169-188

Knight, T. R., Dick, R. P., 2004. Differentiating microbial and stabilized [beta]-glucosidase activity relative to soil quality. *Soil Biology and Biochemistry* 36, 2089-2096.

Kowalchuk, G.A., De Bruijn, F.J., Head, I.M., Akkermans, A.D.L., van Elsas, J.D., 2004. *Molecular Microbial Ecology Manual*, 2nd edition. Kluwer Academic, Dordrecht, the Netherlands.

Ladd, J.N., 1978. Origin and range of enzymes in soil. In: Burns, R.G. (ed.) *Soil Enzymes*. Academic press, New York, pp. 51-96.

Ladd, J.N., Amato, M., Li-Kai, Z., Schultz, J.E., 1994. Differential effects of rotation, plant residues and nitrogen fertilization on microbial biomass and organic matter in an Australian Alfisol. *Soil Biology and Biochemistry* 26, 821-831.

Lagomarsino, A., Moscatelli, M. C., Di Tizio, A., Mancinelli, R., Grego, S., Marinari, S., 2009. Soil biochemical indicators as a tool to assess the short-term impact of agricultural management on changes in organic C in a Mediterranean environment. *Ecological Indicators* 9, 518-527.

Larson, W.E., Pierce, F.J., 1991. Conservation and enhancement of soil quality. In: Evaluation for Sustainable Land Management in the Developing World. Vol. 2. ISBRAM Proc. 12 (2), International Board for Soil Research and Management, Bangkok, Thailand, pp. 175-203.

Larson, W.E., Pierce, F.J., 1994. The dynamics of soil quality as a measure of sustainable management. Dans : Coleman, D.C., Crossley, D.A., Fundamentals of soil ecology. Elsevier Academic Press, 386 pp.

Lavelle, P., Lattaud, D.T., Barois, I., 1995. Mutualism and biodiversity in soils. *Plant and Soil* 170, 23-33.

Lavelle, P., Spain, A.V., 2001. Soil ecology, 1st edition. Kluwer Academic, Amsterdam, 654 pp.

Lavelle P., Decaëns, T., Aubert, M., Barot, S., Blouin, M., Bureau, F., Margerie, P., Mora, P., Rossi, J.P., 2006. Soil invertebrates and ecosystem services. *European Journal of Soil Biology* 42, 3-15

Lebrun, Ph, Wauthy, G., Dufrêne, M., 1989. Soils mites in Belgium : a review. *Comptes-rendus du Symposium "Invertébrés de Belgique"*. Mémoire de l'institut royal des sciences naturelles de Belgique 165, 1-203.

Leckie, S.E., Prescott, C.E., Grayston, S.J., Neufeld, J.D., Mohn, W.W., 2004. Comparison of chloroform fumigation-extraction, phospholipid fatty acid, and DNA methods to determine microbial biomass in forest humus. *Soil Biology and Biochemistry* 36, 529-532

Lee, D.H., Zo, Y.G., Kim, S.J., 1996. Nonradioactive method to study genetic profiles of natural bacterial communities by PCR single-strand-conformation polymorphism. *Applied and Environmental Microbiology* 62, 3112-3120.

Leoni, A., Menta, C., 2008. Microartropodi e collemboli come indicatori di qualità del suolo: gli indici QBS-ar e QBS-c. Proceedings du meeting « Biodiversità dei suoli italiani: indicatori ed applicazioni verso una normativa nazionale » ISPRA, (http://www.apat.gov.it/site/it-IT/ContentsFolder/Notizie/2008/06/atti_biodiversita.html)

Levêque, C., Mounoulou, J.C., 2001. Biodiversité, Conservation et Gestion des ressources naturelles. Dunod, Paris, 248 pp.

Li, J., Zhao, B.-Q., Li, X.-Y., Jiang, R.-B., Bing, S.H., 2008. Effects of Long-Term Combined Application of Organic and Mineral Fertilizers on Microbial Biomass, Soil Enzyme Activities and Soil Fertility. *Agricultural Sciences in China* 7, 336-343.

Li, Y.-T., Rouland, C., Benedetti, M., Li, F.-B., Pando, A., Lavelle, P., Dai, J., 2009. Microbial biomass, enzyme and mineralization activity in relation to soil organic C, N and P turnover influenced by acid metal stress. *Soil Biology and Biochemistry* 41, 969-977.

Liesack, W., Stackebrandt, E., 1992. Unculturable microbes detected by molecular sequences and probes. *Biodiversity and Conservation* 1, 221-226.

Liu, M. Q., Hu, F., Chen, X. Y., Huang, Q. R., Jiao, J. G., Zhang, B., Li, H. X., 2009. Organic amendments with reduced chemical fertilizer promote soil microbial development and nutrient availability in a subtropical paddy field: The influence of quantity, type and application time of organic amendments. *Applied Soil Ecology* 42, 166-175.

Loranger-Merciris, G., Imbert, D., Bernhard-Reversat, F., Ponge, J.F., Lavelle, P., 2007. Soil fauna abundance and diversity in a secondary semi-evergreen forest in Guadeloupe (Lesser Antilles) : influence of soil type and dominant tree species. *Biology and Fertility of Soils*. 44, 269-276.

Lowdermilk, W.C., 1953. Conquest of the Land through 7000 Years. Agricultural informational Bulletin 99, Washington, DC.

Lupwayi, N.Z., Hanson, K.G., Harker, K.N., Clayton, G.W., Blackshaw, R.E., O'Donovan, J.T., Johnson, E.N., Gan, Y., Irvine, R.B., Monreal, M.A., 2007. Soil microbial biomass, functional diversity and enzyme activity in glyphosate-resistant wheat-canola rotations under low-disturbance direct seeding and conventional tillage. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 1418-1427.

Lyons, K.G., Brigham, C.A., Traut, B.H., Schwartz, M.W., 2005. Rarespecies and ecosystem functioning. *Conservation Biology* 19, 1019-1024.

Malchair S, Carnol M. 2009. Microbial biomass and C and N transformations in forest floors under European beech, sessile oak, Norway spruce and Douglas-fir at four temperate forest sites. *Soil Biology and Biochemistry* 41, 831-839.

McCarty, G.W., Bremner, J.M., 1986. Inhibition of nitrification in soil by acetylenic compounds. *Soil Science Society of American Journal* 50, 1198-1201.

McKinley, V.L., Peacock, A.D., White, D.C., 2005. Microbial community PLFA and PHB responses to ecosystem restoration in tallgrass prairie soils. *Soil Biology and Biochemistry* 37, 1946-1958.

Madejon, E., Murillo, J. M., Moreno, F., Lopez, M. V., Arrue, J. L., Alvaro-Fuentes, J., Cantero, C., 2009. Effect of long-term conservation tillage on soil biochemical properties in Mediterranean Spanish areas. *Soil & Tillage Research* 105, 55-62.

Maliszewska-Kordybach, B., Smreczak, B., 2003. Habitat function of agricultural soils as affected by heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons contamination. *Environment International* 28, 719-728.

Mariani, L., Chang, S.X., Kabzems, R., 2006. Effects of tree harvesting, forest floor removal, and compaction on soil microbial biomass, microbial respiration, and N availability in a boreal aspen forest in British Columbia. *Soil Biology and Biochemistry* 38, 1734-1744.

Marinari, S., Masciandaro, G., Ceccanti, B., Grego, S., 2007. Evolution of soil organic matter changes using pyrolysis and metabolic indices: A comparison between organic and mineral fertilization. *Bioresource Technology* 98, 2495-2502.

Martens, R., 2001. Estimation of ATP in soil : extraction methods and calculation of extraction efficiency. *Soil Biology and Biochemistry*, 33, 973-982

Mayeux, V., Savanne, D., 1996. La faune, indicateur de la qualité des sols. Ademe, Direction Scientifique Service Recherche impacts et milieux, 62 pp.

Mendoza, R.B., Franti, T.G., Doran, J.W., Powers, T.O., Zanner, C.W., 2008. Tillage effects on soil quality indicators and nematode abundance in loessial soil under long-term no-till production. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 39, 2169-2190.

Mendum, T.A., Sockett, R.E., Hirsch, P.R., 1998. The detection of Gram-negative bacterial mRNA from soil by RT-PCR. *FEMS Microbiology Letters* 164, 369-373.

Meredith James K., 2005. A comparison of ecological risk assessments done for the Dew line site at Sarcpa lake, Nunavut; a conventional risk assessment versus the TerraSys model. *Assessment and Remediation of Contaminated Sites in Arctic and Cold Climates ARCSACC – Edmonton AB (Canada) May 8-10, 2005*, Environmental Protection Br., Environment Canada, Edmonton.

Mijangos, I., Pérez, R., Albizu, I., Garbisu, C., 2006. Effects of fertilization and tillage on soil biological parameters. *Enzyme and Microbial Technology* 40, 100-106.

Millennium Ecosystem Assessment, 2005. *Ecosystems and Human Well-being: Synthesis.*, Island Press, Washington, DC. 155pp.

Moreno, J. L., Hernández, T., Pérez, A., García, C., 2002. Toxicity of cadmium to soil microbial activity: effect of sewage sludge addition to soil on the ecological dose. *Applied Soil Ecology* 21, 149-158.

Moreno-de las Heras, M., 2009. Development of soil physical structure and biological functionality in mining soils affected by soil erosion in a Mediterranean-Continental environment. *Geoderma* 149, 249-256.

MRW-DGATLP, 2000. Etat de l'environnement wallon 2000. <http://environnement.wallonie.be/eww2000/gen/framegen.htm>

MRW-DGNRE, 2007. Rapport Analytique sur l'état de l'environnement wallon 2006-2007, Namur, 736 pp.

Nahmani, J., Rossi, J.-P., 2003. Soil macroinvertebrates as indicators of pollution by heavy metals. *Comptes Rendus Biologies* 326, 295-303.

Nannipieri, P., 1994. The potential use of soil enzymes as indicators of productivity, sustainability and pollution In: Pankhurst, C.E, Doube, B.M., Gupta V.V.S.R., Grace, P.R. (eds), *Soil biota. Management in Sustainable Farming Systems*, CSIRO, East Melbourne, pp. 238-244.

Nannipieri, P., Gianfreda, L., 1998. Kinetics of enzyme reactions in soil environments. In : Huang, P.M., Senesi, N., Buffle, J. (eds) *Environmental Particles-structure and surface reactions of soil particles*. J. Wiley, Chichester, pp. 449-479.

Nannipieri, P., Ascher, J., Ceccherini, M.T., Landi, L., Pietramellara, G., Renella, G., 2003. Microbial diversity and soil functions. *European Journal of Soil Science* 54, 655-670.

Nelson, K.L., Lynch, D.H., Boiteau, G., 2009. Assessment of changes in soil health throughout organic potato rotation sequences. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 131, 220-228.

Nielsen, M.N., Winding, A. 2002: *Microorganisms as Indicators of Soil Health*. National Environmental Research Institute, Denmark. Technical Report No. 388, 385 pp.

Nogueira, M.A., Albino, U.B., Brandão-Junior, O., Braun, G., Cruz, M.F., Dias, B.A., Duarte, R.T.D., Gioppo, N.M.R., Menna, P., Orlandi, J.M., Raimam, M.P., Rampazo, L.G.L., Santos, M.A., Silva, M.E.Z., Vieira, F.P., Torezan, J.M.D., Hungria, M., Andrade, G., 2006. Promising indicators for assessment of agroecosystems alteration among natural, reforested and agricultural land use in southern Brazil. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 115, 237-247.

Okubo, A., Sugiyama, S. 2009. Comparison of molecular fingerprinting methods for analysis of soil microbial community structure. *Ecological Research* 24, 1399-1405.

Olszowska, G., 2009. Evaluation of biochemical activity in soils of different mountain forest site types. *Forest Research Papers* 70, 383-394.

Øvreås, L., 2000. Population and community level approaches for analysing microbial diversity in natural environments a review. *Ecology Letters* 3, 236-251.

Øvreås, L., Torsvik, V., 1998. Microbial Diversity and Community Structure in Two Different Agricultural Soil Communities. *Microbial Ecology*, 36, 303-315

Pang, X., Ning, W., Qing, L., Bao, W., 2009. The relation among soil microorganism, enzyme activity and soil nutrients under subalpine coniferous forest in Western Sichuan. *Acta Ecologica Sinica* 29, 286-292.

Pankhurst, C.E., 1996. Biodiversity of soil organisms as indicator of soil health. In: Pankhurst, C.E., Doube, B.M., Gupta, V.V.S.R. (eds). *Biological Indicator of Soil Health*, CAB International, Wallingford, pp. 297-324

Parisi V, Menta, C., Gardi, C., Jacomini, C., Mozzanica, E., 2005. Microarthropod communities as a tool to assess soil quality and biodiversity: a new approach in Italy. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 105, 323-333.

Parmelle, R.W., Beare, M.H., Cheng, W., Hendrix, P.F., Rider, S.J., Crossley, D.A., Coleman, D.C., 1990. Earthworms and enchytraeids in conventional and no-tillage agroecosystems : a biocide approach to assess their role in organic matter breakdown. *Biology and Fertility of Soils* 10, 1-10.

Paustian, K., Bergström, L., Jansson, P.E., Johnsson, H., 1990. Ecosystem dynamics. In: Andrén, O., Lindberg, T., Paustian, K., Rosswall, T. (eds) *Ecology of arable Land. Organisms, carbon and Nitrogen Cycling (Ecological Bulletin)* 40, pp. 153-180.

Peeters, M., Franklin, A., Van Goethem, J., 2003. Biodiversity in Belgium. Royal Belgian Institute of Natural Sciences, Brussels, 416 pp.

Peeters, M., Schlessers, M., Réveillon, A., Franklin, A., Collin, Cl., Van Goethem, J., 2006. La biodiversité en Belgique : un aperçu. Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique, Bruxelles, 20 pp.

Peterson, S.O., Frohne, P.S., Kennedy, A.C., 2002. Dynamics of a soil microbial community under spring wheat. *Soil Science Society of America journal* 66, 826-833.

Petz, W., Foissner, W., 1989. The effects of mancozeb and lindane on the soil microfauna of a forest spruce : a field study using a completed randomized block design. *Biology and Fertility of Soils* 7, 225-231.

Pfiffner, L., Mäder, P., 1999. VVB Bulletin. Biologie du sol-Application. Arbeitsgruppe "Vollzug BodenBiologie". Frick/bern, Switzerland.

Power, A.G., 2010. Ecosystem services and agriculture : tradeoffs and synergies. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 365, 2959-2971

Pozo, C., Martínez-Toledo, M. V., Rodelas, B., González-López, J., 2003. Response of soil microbiota to the addition of 3,3'-diaminobenzidine. *Applied Soil Ecology* 23, 119-126.

Qiu, J.J., Westerdahl, B.B., Anderson, C., Williamson, V.M., 2006. Sensitive PCR detection of *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita*, and *M. javanica* extracted from Soil. *The Journal of Nematology* 38, 434-441

Ramade, F. 2002. Dictionnaire encyclopédique de l'écologie et des sciences de l'environnement. Dunot, France, 1076 pp.

Ramade, F., 2002. Dictionnaire encyclopédique de l'écologie et des sciences de l'environnement. Dunod, Paris, 1076 pp.

Ramos, M. E., Benítez, E., García, P. A., Robles, A. B., 2010. Cover crops under different managements vs. frequent tillage in almond orchards in semiarid conditions: Effects on soil quality. *Applied Soil Ecology* 44, 6-14.

Renoux, A., Wallis, P. & Trépanier, J.P., 2005. Modelling the fate of pollutants in the ecosystem to evaluate the ecotoxicological risk with the software program TerraSys. ConSoil 2005 : 9th International FZK/TNO Conference on Soil/Water-Systems – Bordeaux (France) October 3-7, 2005, pp. 615-624.

Reyes-Reyes, B.G., Alcántara-Hernández, R., Rodríguez, V., Olalde-Portugal, V., Dendooven, L., 2007. Microbial biomass in a semi arid soil of the central highlands of Mexico cultivated with maize or under natural vegetation. *European Journal of Soil Biology* 43, 180-188.

Ritchie, D. A., Edwards, C., McDonald, I. R., and Murrell, J. C., 1997. Detection of methanogens and methanotrophs in natural environments. *Global Change Biology* 3, 339-350.

Ritz, K., Black, H.I.J., Campbell, C.D., Harris, J.A., Wood, C.M., 2009. Selecting biological indicators for monitoring soils : A framework for balancing scientific and technical opinion to assist policy development. *Ecological Indicators* 9, 1212-1221.

Römbke, J., Breure, A-M, 2005. Status and outlook of ecological soil classification and assessment concepts. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 62, 300-308

Ruiz-Camacho, N., Velasquez, E., Pando, A., Decaëns, T., Dubs F., Lavelle, P., 2009. Indicateurs synthétiques de la qualité des sols. *Etudes et Gestion des Sols*, 16 (3/4), 323-338.

Rutgers, M., Breure, A.M., Insam, H., 2006. Substrate utilization in Biolog plates for analysis of CLPP. In: Bloem, J., Hopkins, D.W., Benedetti, A. (eds). *Microbiological Methods for Assessing Soil Quality*. CAB Publishing, Wallingford, pp. 212-227

Rutgers M., Schouten, A.J., Bloem, J., van Eekeren, N., de Goede, R.G.M., Jagers op 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* 60, 820-832.

- Saggar, S., Yeates, G.W., Shepherd, T.G., 2001. Cultivation effects on soil biological properties, microfauna and organic matter dynamics in Eutric Gleysol and Gleyic Luvisol soils in New Zealand. *Soil Tillage Research* 58, 55-68.
- Sanexen Environmental Services Inc., 2002. TerraSys Reference Manual
- Samuelson, L., Mathew, R., Stokes, T., Feng, Y., Aubrey, D., Coleman, M., 2009. Soil and microbial respiration in a loblolly pine plantation in response to seven years of irrigation and fertilization. *Forest Ecology and Management* 258, 2431-2438.
- Schouten, A.J., Brussaard, L., de Ruiter, P.C., Siepel, H., van Straalen N.M., 1997. Een indicatorsysteem voor life support functies van de bodem in relatie tot biodiversiteit, RIVM rapport 712910005, 55pp.
- Schouten A.J., Breure, A.M., Bloem, J., Didden, W., de Ruiter, P.C., Siepel, H., 1999. Life support functies van de bodem : operationalisering t.b.v. het biodiversiteitsbeleid. RIVM rapport 607601003, 90 pp.
- Serrano, A., Gallego, M., González, J.L., Tejada, M., 2008. Natural attenuation of diesel aliphatic hydrocarbons in contaminated agricultural soil. *Environmental Pollution* 151, 494-502.
- Sicardi, M., García-Préchac, F., Frioni, L., 2004. Soil microbial indicators sensitive to land use conversion from pastures to commercial *Eucalyptus grandis* (Hill ex Maiden) plantations in Uruguay. *Applied Soil Ecology* 27, 125-133.
- Singh, B.N., 1946. A method of estimating the numbers of soil protozoa, especially amoebae, based on their differential feeding on bacteria. *Annals of Applied Biology* 33, 112-120.
- Smith, M.S., Tiedje, J.M., 1979. Phases of denitrification following oxygen depletion in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 1, 261-267.
- Smalla, K., Oros-Sichler, M., Miling, A., Heuer, H., Baumgarte, S., Becker, R., Neuber, G., Kropf, S., Ulrich, A., Tebbe, C.C., 2007. Bacterial diversity of soils assessed by DGGE, T-RFLP and SSCP fingerprints of PCR-amplified 16S rRNA gene fragments: do the different methods provide similar results? *Journal of Microbiology Methods* 69, 470-479.
- Solaiman, Z., Marschner, P., 2007. DGGE and RISA Protocols for microbial community analysis. In: Varma, A., Oelmüller, R. (eds.) *Advanced Techniques in Soil Microbiology* Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, pp. 167-180
- Soultos, N., Madden, R.H., 2007. A genotyping investigation of the colonization of piglets by *Campylobacter coli* in the first 10 weeks of life, *Journal of Applied Microbiology* 102, 916-920.
- Sparling, G.P., 1981. Micorcalorimetry and other methods to assess biomass and activity in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 13, 93-98.
- SPW-DGARNE-DEMNA-DEE, 2008. Tableau de bord de l'environnement wallon 2008, Namur, 199 pp.
- Sparling, G.P., 1997. Soil microbial biomass, activity and nutrient cycling as indicators of soil health. In : Pankhurst, C.E., Boubé, B.M., Gupta, V.V.S.R. (eds). *Biological Indicators of Soil Health*, pp. 97-119.
- Stackebrandt, E., Frederiksen, W., Garitty, J.M., Grimont, P.A.D., Kämpfer, P., Maiden, M.C.J., Nesme, X., Rossello-Mora, R., Swings, J., Trüper, H.G., Vauterin, L., Ward, A.C., Whitman, W.B., 2002. Report of the ad hoc committee for the re-evaluation of the species definition in bacteriology. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 52, 1043-1047.
- Stephens, M., Micheli, E., Jones, A.R., Jones, R.J.A., 2008. Environmental Assessment of Soil for Monitoring Volume IVb: Prototype Evaluation – Pilot Studies. EUR 23490 EN/4B, Office for the Official Publications of the European Communities, Luxembourg, 487 pp.
- Steen, E., 1990. Agricultural Outlook. In: Andrén, O., Lindberg, T., Paustian, K., Rosswall, T. (eds) *Ecology of arable Land. Organisms, carbon and Nitrogen Cycling (Ecological Bulletin)* 40, pp. 181-192.
- Stenberg, B., 1999. Monitoring soil quality of arable land : microbiological indicators. *Acta Agriculturae Scandinavica* 49, 1-24.
- Stevenson, F.J., 1985. The Internal Cycle of Nitrogen in Soil. Cycle of C, N, P, S, Micronutrients. J. Wiley & Son, New York, pp. 115-215.
- Suter II, G.W., Efroymson, R.A., Sample, B.E., Jones. D.S., 2000. Ecological risk assessment for contaminated sites. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, 438 pp.
- Svensson, K., 2002. Microbial indicators of fertility in Arable land. PhD theis, Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala, 53pp.
- Swift, M.J., Heal, O.W., Anderson, J.M., 1979. Decomposition in terrestrial ecosystem. University of California Press, Bekerley.
- Swinton, S., Lupia, F., Robertson, G., & Hamilton, S. 2007. Ecosystem services and agriculture: cultivating agricultural ecosystems for diverse benefits. *Ecological Economics* 64, 245-252.
- Tabatabai, M.A., 1982. Soil Enzymes. In: *Methods of Soil Analysis, Part 2, Agronomy 9*, American Society of Agronomy, Page, A.L., R.H. Miller and D.R. Keeney (eds.). Madison, Wisconsin, USA, pp. 903-947.

- Tao, J., Griffiths, B., Zhang, S., Chen, X., Liu, M., Hu, F., Li, H., 2009. Effects of earthworms on soil enzyme activity in an organic residue amended rice-wheat rotation agro-ecosystem. *Applied Soil Ecology* 42, 221-226.
- Tae, K.R., Jenkinson, D.S., 1982. Adenosine triphosphate measurements in soil : a improved method. *Soil Biology and Biochemistry*, 14, 331-335
- Tiedje, J.M., Simkins, S., Groffman, P.M., 1989. Perspectives on measurement of denitrification in the field including recommended protocols for acetylene based methods. *Plant and Soil* 115, 261-284.
- Tirri, R., Lehtonen, J., Lemmetyinen, R., Pihakaski, S., Portin, P., 1998. Elsevier's Dictionary of Biology. Elsevier, Amsterdam, 772 pp.
- Tomlin, A.D., Shipitalo, M.J., Edwards, W.M., Protz, R., 1995. Earthworms and their influence on soil structure and infiltration. In Hendrix, P.F. (ed.), *Earthworm Ecology and Biogeography in North America*, Lewis Publishing, Boca Raton, FL, pp. 159-183.
- Torsvik, V., Goksøyr, J., Daae, F.L., 1990. High diversity of DNA of soil bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 56, 782-787.
- Torsvik, V., Sorheim, R., Goksøyr, J. 1996. Total bacterial diversity in soil and sediment communities—a review. *Journal of Industrial Microbiology* 17, 170-178.
- Trasar-Cepeda, C., Leirós, M. C., Seoane, S., Gil-Sotres, F., 2000. Limitations of soil enzymes as indicators of soil pollution. *Soil Biology and Biochemistry* 32, 1867-1875.
- Trépanier, J.P., 2003. Un nouvel outil pour l'évaluation des risques écotoxicologiques liés aux terrains contaminés: le logiciel TerraSys. *Vecteur Environnement* 36, 40-50.
- Turbé, A., De Toni, A., Benito, P., Lavelle, P., Lavelle, P., Ruiz, N., Van der Putten, W. H., Labouze, E., Mudgal, S., 2010. Soil biodiversity: functions, threats and tools for policy makers. Bio Intelligence Service, IRD, and NIOO, Report for European Commission (DG Environment).
- Udawatta, R. P., Kremer, R. J., Garrett, H. E., Anderson, S. H., 2009. Soil enzyme activities and physical properties in a watershed managed under agroforestry and row-crop systems. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 131, 98-104.
- US-EPA., 1996. Soil Screening Guidance : Technical background document. 2nd edition, EPA, USA.
- US-EPA., 1999a. Screening Level Ecological Risk Assessment Protocol for Hazardous Waste Combustion Facilities. EPA, USA.
- US-EPA., 1999b. Screening Level Ecological Risk Assessment Protocol for Hazardous Waste Combustion Facilities- Volume 2. EPA, USA.
- US-EPA., 1999c. Screening Level Ecological Risk Assessment Protocol for Hazardous Waste Combustion Facilities - Volume 3. EPA, USA.
- van Bruggen, A.H.C., Semenov, A.M.; 1999. A new approach for indicators of root disease suppression. *Australian Journal of Plant Pathology* 28, 4-10.
- Van-Camp, L , Bujarrabal, B., Gentile, A-R, Jones, R.J.A., Montanarella, L., Olazábal, C., Selvaradjou, S.-K., 2004. Reports of the Technical Working Groups Established under the Thematic Strategy for Soil Protection. EUR 21319 EN/3, 872 pp. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg. (disponible à l'adresse : http://ec.europa.eu/environment/soil/making_en.htm)
- van den Brink, N., Baveco, H., Bervoets, L., Perry, H., Vermeulen, F., de Winter W., van der Pol, J., 2007. Breaking ecotoxicological restraints in spatial planning (BERISP). Manual for the BERISP-DSS. Wageningen, Alterra, Alterra-BERISP Manual Okt 2007_NvdB.doc., 72 pp.
- Van Elsas, J.D., Rutgers, M., rsity and community composition. In: Bloem, J., Hopkins, D.W., Benedetti, A. (eds) *Microbiological Methods for Assessing Soil Quality*. CAB International, UK, pp. 183-227.
- Van Straalen, N.M., 1997. Community structure of soil arthropod as a bioindicator of soil health. In: Pankhurst, C.E., Doube, B.M., Gupta, V.V.S.R. (eds). *Biological Indicators of Soil Health*, CAB Publishing, Oxford, pp. 235-265.
- Vance, E.D., Brookes, P.C., Jenkinson, D.S., 1987. An extraction Method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry* 19, 703-707.
- VBB-BSA, 2009. Utilisation et interprétation des paramètres biologiques du sol. Aide à la mise en œuvre. Groupe de travail « Biologie du sol – application » (BSA). (<http://www.bafu.admin.ch/boden/00966/00967/index.html?lang=fr>)
- Vestberg, M., Kukkonen, S., Saari, K., Tuovinen, T., Palojarvi, A., Pitkanen, T., Hurme, T., Vepsäläinen, M., Niemi, M., 2009. Effects of cropping history and peat amendments on the quality of a silt soil cropped with strawberries. *Applied Soil Ecology* 42, 37-47.
- von Wintzingerode, F., Göbel, U.B., Stackebrandt, E., 1997. Determination of microbial diversity in environmental samples : pitfalls of PCR-based rRNA analysis. *FEMS Microbiology Review* 21, 213-229.

- Wallace, K.J., 2007. Classification of ecosystem services: problems and solutions. *Biological Conservation* 139, 235-246.
- Wallworth, J.A., 1970. *Ecology of Soil Animals*. Mc Graw-Hill, London
- Wardle, D.A., Ghani, A., 1995. A critique of the microbial metabolic quotient (qCO_2) as a bioindicator of disturbance and ecosystem development, *Soil Biology & Biochemistry* 27, 1601-1610.
- Warkentin, B.P., Fletcher, H.F., 1977. Soil quality for intensive agriculture. In: *Proceedings of the International Seminar on Soil Environment and Fertilizer Management in Intensive Agriculture*. Society for Science of Soil and Manure, National Institute of Agricultural Science, Tokyo, pp. 594–598.
- Wayne, L.G., Brenner, D.J., Colwell, R.R., Grimont, P.A.D., Kandler, O., Krivesky, M.I., Moore, L.H., Moore, W.E.C., Murray, R.G.E., Stackebrandt, E., Starr, M.P., Trüper, H.G., 1987. Report of the ad hoc committee on reconciliation of approaches to bacterial systematics. *International Journal of Systematic Bacteriology* 37, 463-464.
- Wienhold, B.J., 2007. Comparison of laboratory methods and an in situ method for estimating nitrogen mineralization in an irrigated silt-loam soil. *Communication in Soil Science and Plant Analysis* 38, 1721-1732.
- Winding, A., Hund-Rinke K., Rutgers, M., 2005. The use of microorganisms in ecological soil classification and assessment concepts, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 62, 230-248.
- Wollum, A.G.II., 1994. Soil sampling for Microbiological Analysis. In: Weaver, R.W., Angle, J.S., Bottomley, P.S. (eds) *Methods of Soil Analysis. Part 2. Microbial and Biogeochemical Properties*, Soil Science Society of America, Madison, pp. 2-14.
- Yeates, G.W., 2003. Nematodes as soil indicators : functional and biodiversity aspects. *Biology and Fertility of Soils* 37, 199-210.
- Yuping, W.; Na, D., Gang, W., Jianming, X. ; Jianjun, W., Brookes, P.C., 2009. Effects of different soil weights, storage times and extraction methods on soil phospholipid fatty acid analyses. *Geoderma* 150, 171-178
- Zabaloy, M. C., Garland, J. L., Gómez, M. A., 2008. An integrated approach to evaluate the impacts of the herbicides glyphosate, 2,4-D and metsulfuron-methyl on soil microbial communities in the Pampas region, Argentina. *Applied Soil Ecology* 40, 1-12.
- Zak, J.C., Willig, M.R., Moorhead, D.L., Wildman, H.G., 1994. Functional diversity of microbial communities: a quantitative approach. *Soil Biology & Biochemistry* 26, 1101-1108.
- [Zeller](#), V., Kandeler, E., Trockner, V., 1997. Measurement of net nitrogen mineralization in grassland: a comparison of methods. *Bodenkultur* 48, 89-96
- Zelles, L., 1999. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil : a review. *Biology and Fertility of Soils* 29, 111–129.
- Zhang, C., Huang, L., Luan, T., Jin, J., Lan, C., 2006. Structure and function of microbial communities during the early stages of revegetation of barren soils in the vicinity of a Pb/Zn Smelter. *Geoderma* 136, 555-565.
- Zwolinski, J., 2004. Microbial biomass versus soil fertility in forest sites. *Polish Journal of Ecology* 52, 553-561