

5^{èmes} journées thématiques de l'Association
Francophone d'Ecologie Microbienne (AFEM)



Compilation des
Résumés

SESSION 1

Organismes modèles, espèces sentinelles,
bioessais, bioindicateurs, biomarqueurs,
biocapteurs

DEVELOPPEMENT ET APPLICATIONS DE BIOCAPTEURS MICROBIENS POUR LA SURVEILLANCE EN TEMPS RÉEL DE LA QUALITÉ DES EAUX EN MILIEUX INDUSTRIELS ET NATURELS

MONIER Jean-Michel et SIBOURG Olivier

ENOVEO, 7 place Antonin Poncet, 69002 Lyon, France

La surveillance des milieux aquatiques constitue un enjeu majeur pour l'atteinte des objectifs de bon état des masses d'eau fixés par la Directive Cadre Européenne. Les méthodologies actuelles de surveillance, essentiellement fondées sur la collecte d'échantillons, présentent de nombreuses limites (*eg*, représentativité insuffisante, coûts, non détection d'évènements ponctuels). Dans ce contexte, nous avons développé un biocapteur microbien, exploitant les communautés indigènes comme bioindicateurs et permettant d'assurer une veille en temps réel de la qualité de milieux aquatiques naturels ou industriels (présence de composés toxiques, variations de charge organique).

La technologie développée repose sur le principe des piles à combustibles microbiennes qui permettent de récupérer sous forme d'énergie électrique, l'énergie chimique contenue dans des composés organiques. De manière schématique, les biocapteurs sont « fonctionnalisés » à partir de la communauté microbienne indigène et installés sur le site à surveiller. Le signal électrique généré, directement corrélé à l'activité microbienne à la surface des électrodes, est exploité afin d'estimer la charge organique du milieu (DBO) ou de détecter la présence de composés toxiques en temps réel.

La présentation abordera le principe de fonctionnement et les avantages des biocapteurs, les applications actuelles et futures (*ie*, surveillance en temps réel d'eaux de surfaces, eaux souterraines, STEU et réseaux d'assainissement, mesures ponctuelles en laboratoire de la qualité écotoxicologique d'un milieu...) ainsi qu'une description des particularités des communautés microbiennes « électroactives » (empreintes génétiques, NGS, microscopie) utilisées comme bioindicateurs.

TOXICITY ASSESSMENT OF HERBICIDES AND PETROLEUM USING OSTREOCOCCUS TAURI AS LUMINESCENT BIOSENSOR

JOUX Fabien, BOUGET François-Yves, CHEDRI Nicolas, LEROY Fanny, SANCHEZ-FERANDIN Sophie

Laboratoire d'Océanographie Microbienne (LOMIC) UMR7621 UPMC-CNRS, Observatoire Océanologique de Banyuls, 66650 Banyuls/mer, France

Coastal ecosystem is exposed to various pollutants including pesticides and petroleum hydrocarbons. These pollutants may affect non-target organism including phytoplankton. There is a great interest to develop new approaches to detect the toxicity of these pollutants for marine organisms and to perform ecotoxicological tests considering the interactions between different pollutants or the interactions of pollutants with environmental parameters. To resolve this complexity a high and sensitive assay is required. We propose here the use of the marine photosynthetic picoeukaryote *Ostreococcus tauri* for which biosensors expressing the luciferase under specific gene control have been developed.

The different modified genetic lines were grown in 96-wells white microplate at 20°C with Keller media and luciferin (10 µM) under constant illumination at 13 µmole.quanta. cm⁻². sec⁻¹. Luminescence was acquired every 2 h with a automated luminometer and over 72 h to follow in vivo expression of genes of interest and proteins functions. The response of different luminescent lines was measured for two herbicides, diuron and irgarol, used as boosters in antifouling paints. This was compared to growth inhibition of *O. tauri* wild type under the same conditions. Luminescence appeared to be more sensitive than growth inhibition as an indicator of toxicity. Cyclin-dependent kinase (CDKA), a protein involved in the cell cycle, fused to luciferase (CDKA-Luc) was found to be the most sensitive of the biosensors, allowing an accurate determination of the 50% effective concentration (EC50) after only 2 days (diuron, 5.65±0.44 µg/liter; Irgarol 1015, 0.76±0.10 µg/liter).

We extended these assays by measuring the toxicity of the Macondo crude oil petroleum and the oil dispersant Corexit 9500A. Oil water-accommodated-fractions (WAF) showed a relatively low toxicity for the luminescent biosensor based. In contrast, the Corexit 9500A was highly toxic for this biosensor. Surprisingly, the enhanced water-accommodated-fractions (CEWAF), corresponding to the mix of the Macondo and the Corexit 9500A, seemed to be less toxic than the addition of Corexit alone.

Our results demonstrate that the use of luminescent biosensors can constitute a sensitive, high throughput and non-invasive approach to assess the toxicity of many molecules and possibly applied with natural samples to detect toxic molecules in the environment.

Références bibliographiques :

Sanchez-Ferandin S., Leroy F., Bouget F-Y., Joux F. (2013) A new, sensitive marine microalgal recombinant biosensor using luminescence monitoring for toxicity testing of antifouling biocides. Applied Environmental Microbiology 79:631-638

IMPACT DU METOLACHLORE SUR LA PHYSIOLOGIE ET LE COMPORTEMENT DE LA DIATOMÉE DULÇAQUICOLE *GOMPHONEMA GRACILE*.

COQUILLÉ Nathalie^{1,2,3}, GANDON Aude², STACHOWSKI-HABERKORN Sabine³, JAN Gwilherm², PARLANTI Edith¹, MORIN Soizic²

(1) Laboratoire de Toxicologie et Physico-Chimie de l'environnement (LPTC) UMR CNRS 5805 EPOC, Université de Bordeaux, 351 Cours de la Libération, 33405 Talence Cedex, France

(2) Equipe Contaminants anthropiques et réponses des milieux aquatiques (CARMA) UR EABX, IRSTEA, 50 avenue de Verdun, 33612 Cestas Cedex, France

(3) Laboratoire d'écotoxicologie UR BE, IFREMER, rue de l'île d'Yeu, BP 21105, 44311 Nantes Cedex 03, France

Les micro-algues jouent un rôle fondamental dans les écosystèmes aquatiques : elles sont à la base des réseaux trophiques et ce en raison de leur statut de producteurs primaires. Au sein des milieux aquatiques, elles peuvent ainsi être directement impactées par des molécules de type herbicide provenant des écosystèmes terrestres et retrouvées dans le milieu par des phénomènes de ruissellement, drainage, infiltration et lessivage des sols. Cependant, les descripteurs actuels (croissance, fluorescence chlorophyllienne) s'avèrent parfois peu sensibles pour détecter les impacts toxiques de molécules dont la cible n'est pas le photosystème. Dans ce contexte, cette étude a pour but de quantifier l'impact de l'herbicide métolachlore (inhibiteur des élongases) sur une espèce de diatomée dulçaquicole *Gomphonema gracile* Ehrenberg, mise en culture et isolée du milieu d'étude, la Leyre (principal tributaire du bassin d'Arcachon). Cet herbicide est le contaminant majoritaire du bassin versant (en termes de fréquence de quantification et de concentration). Sa toxicité est évaluée sur des paramètres physiologiques (croissance, photosynthèse, concentration en ATP) et comportementaux (mobilité). Alors que les descripteurs classiques (par exemple l'activité photosynthétique) ne permettent pas de mettre en évidence d'impact toxique du métolachlore, et ce quelle que soit la concentration testée, les descripteurs de mobilité (pourcentage de cellules mobiles, vitesse de déplacement) démontrent des impacts toxiques, pour des concentrations environnementales. Nos résultats soulignent l'importance de l'utilisation de descripteurs d'effet diversifiés, et démontrent le potentiel prometteur d'indicateurs comportementaux pour la mise en évidence de contaminations toxiques.

Références bibliographiques :

Stachowski-Haberkorn, S., Jérôme, M., Rouxel, J., Khelifi, C., Rincé, M., Burgeot, T., 2013. Multigenerational exposure of the microalga *Tetraselmis suecica* to diuron leads to spontaneous long-term strain adaptation. *Aquatic Toxicology* 140-141, 380-388.

Huguet, A., Vacher, L., Relexans, S., Saubusse, S., Froidefond, J.M., **Parlanti, E.**, 2009. Properties of fluorescent dissolved organic matter in the Gironde Estuary. *Organic Geochemistry* 40: 706-719.

Morin, S., Pesce, S., Kim-Tiam, S., Libert, X., Coquery, M., Mazzella, N. 2012. Use of polar organic chemical integrative samplers to assess the effects of chronic pesticide exposure on biofilms. *Ecotoxicology* 25, 1570-1580.

UTILISATION DU COUPLAGE DNA-SIP / PYROSÉQUENÇAGE EN ECOTOXICOLOGIE MICROBIENNE

SEVERIN Tatiana, SAURET Caroline, LEFORT Thomas, PUJO-PAY Mireille, CONAN Pascal, GHIGLIONE Jean-François

Laboratoire d'Océanographie Microbienne (LOMIC) UMR7621, Observatoire Océanologique de Banyuls, F 66650 Banyuls/mer, France

L'écotoxicologie microbienne est la science qui étudie les conséquences écologiques de pollutions à l'échelle des communautés microbiennes. Pour étudier l'influence des polluants sur ces communautés, nous utilisons généralement des outils d'inventaires moléculaires de plus en plus puissants qui rendent souvent compte de changements rapides de la diversité des bactéries après une pollution. Néanmoins, ces changements de diversité ne permettent pas de faire un lien direct avec la fonction de dégradation des polluants et ne rendent pas compte de la tolérance des organismes aux polluants. Nous montrons ici que la diversité fonctionnelle des bactéries marines peut être abordée de manière très précise en utilisant les nouvelles techniques 'omics' couplées au DNA-SIP. Nos résultats montrent que les individus de la 'biosphère rare', considérés comme peu actifs dans le fonctionnement de l'écosystème, peuvent s'avérer des éléments clés pour la dégradation de polluants organiques persistants, voire même être utilisés comme bioindicateurs potentiels de la qualité écotoxicologique du milieu.

Mots-clés : Ecotoxicologie microbienne, biodiversité, pyroséquençage, polluants

Références bibliographiques :

GHIGLIONE JF, GALAND PE, POMMIER T, et al. (2012) Pole to pole biogeography of surface and deep marine bacterial communities. PNAS, 109:17633-8.

SAURET C, GHIGLIONE JF (2013) Monitoring of oil-degrading bacteria by stable isotope probing. In Encyclopedia of Aquatic Ecotoxicology (Férard, J.F. and Blaise, C., editors), Springer Publishers, 751-766.

POSTER SESSION 1:

CARACTÉRISATION DE LA TOLÉRANCE ET DES CAPACITÉS CATABOLIQUES DE COMMUNAUTÉS MICROBIENNES ÉDAPHIQUES PROVENANT D'UN SITE CONTAMINÉ PAR UN GRADIENT DE POLLUTION MÉTALLIQUE

BÉRARD Annette^{1,2}, CAPOWIEZ Line^{1,2}, MAZZIA Christophe³, DUMAT Camille⁴, CAPOWIEZ Yvan⁵

(1)INRA, UMR1114 EMMAH, F-84914 Avignon, France (2)UAPV, UMR1114 EMMAH, F-84914 Avignon, France (3)UMR 7263 IMBE UAPV 301 rue Baruch de Spinoza, BP 21239, F-84916 Avignon, France (4) Université de Toulouse, UMR 5245 CNRS-INP-UPS, EcoLab, 31326 Castanet-Tolosan (5)UR 1115 INRA PSH, F-84914 Avignon, France

Les communautés microbiennes participent directement à la qualité biologique des sols et présentent une très grande diversité spécifique et fonctionnelle. Ce sont des indicateurs édaphiques particulièrement pertinents. Cependant, peu d'outils existent qui permettent d'utiliser ces communautés comme indicateurs d'écotoxicité dans les sols. Nous avons adapté une technique de microrespirométrie (MicroResp™) pour aborder en situation de contamination *in situ* les communautés microbiennes comme indicatrices d'écotoxicité. Nous avons mesuré la biomasse active, des paramètres d'état physiologique, la diversité catabolique et la tolérance au plomb des communautés microbiennes et fongiques édaphiques prélevées sur des transects à distances croissantes d'une usine de recyclage de batterie. Les communautés microbiennes (et fongiques) présentent une biomasse de plus en plus faible à proximité de la source de pollution. Inversement, elles présentent un quotient métabolique (qCO₂) microbien et une tolérance au plomb (PICT) de plus en plus élevés. Les profils cataboliques sont aussi influencés par la distance à la source de pollution, en particulier le profil fongique. Enfin Le trait physiologique des communautés microbienne qCO₂ est corrélé avec les valeurs de tolérance et la concentration en plomb total dans le sol, suggérant un coût physiologique de cette tolérance acquise au métal.

Références bibliographiques :

- Bérard A., Mazzia C., Sappin-Didier V., Capowiez L., Capowiez Y., 2014. Use of the MicroResp™ method to assess Pollution-Induced Community Tolerance in the context of metal soil contamination. *Ecological Indicators* 40: 27-33..
- Ben Sassi M., Dolinger J., Renault P., Tlili A., Bérard A., 2012. The FungiResp method. an application of the MicroResp™ method to assess fungi in microbial communities as soil biological indicators. *Ecological Indicators*. 23 : 482-490.
- Bérard A., Ben Sassi M., Renault P., Gros R., 2012. Severe drought-induced community tolerance to heat wave. An experimental study on soil microbial processes. *Journal of Soils and Sediments*. DOI 10.1007/s11368-012-0469-1

POSTER SESSION 1:

VERS UN BIOESSAI POUR LA CARACTERISATION BIOCHIMIQUE DE LA CONTAMINATION DES SOLS

Grondin Virginie^{1,2}, Cheviron Nathalie^{1,2}, Mougin Christian^{1,2}

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

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

La plateforme Biochem-Env, créée en 2011 par l'INRA, est un partenaire du projet ANAEE France, qui vise à doter la France d'un réseau intégré de plateformes expérimentales, analytiques et numériques dédiées à l'étude des écosystèmes continentaux, terrestres et aquatiques. Elle représente une infrastructure essentielle en tant que plateforme technologique pour assurer la caractérisation du patrimoine sol dans un contexte de développement durable. Elle ambitionne de devenir un dispositif analytique de soutien aux dispositifs expérimentaux, unique en France et en Europe, dédié à la mesure d'indicateurs biochimiques dans les sols, à la conservation et à l'analyse des données produites. Elle a également pour ambition de développer des méthodologies et technologies de pointe pour assurer la caractérisation biochimique des sols.

Dans ce cadre, la plateforme Biochem-Env développe des bioindicateurs de réponse des sols aux différents stress anthropiques. La mise en place d'un bioessai, comme test d'écotoxicité, permettra de mettre en évidence l'impact des contaminants sur des sols d'agrosystèmes contaminés. Parmi les indicateurs les plus pertinents, une enzyme fongique (la laccase) a été sélectionnée parce que répondant à différents stress chimiques (métalliques et organiques). L'objectif de cette étude est de montrer que la laccase sécrétée par *Trametes versicolor* est un indicateur de contamination des sols. Celui-ci est couramment utilisé comme organisme modèle et est caractérisé par sa grande efficacité à dégrader entièrement les composés du bois comme la lignine et la cellulose. L'activité laccase induite par exposition de *Trametes versicolor* aux différents polluants deviendrait par conséquent un outil d'évaluation de l'écotoxicité des sols.

Références bibliographiques :

Margot J, Maillard J, Rossi L, Barry D.A., Holliger C. 2013. Influence of treatment conditions on the oxidation of micropollutants by *Trametes versicolor* laccase. *New Biotechnology*, 25: 803–813.

Lebrun JD, Demont-Caulet N, Cheviron N, Laval K, Trinsoutrot-Gattin I, Mougin C. 2011. Secretion profiles of fungi as potential tools for metal ecotoxicity assessment: a study of enzymatic system in *Trametes versicolor* *Chemosphere.*, 82(3):340-5.

Wu Y, Jiang Y, Jiao J, Liu M, Hu F, Griffiths BS, Li H. 2014. Adsorption of *Trametes versicolor* laccase to soil iron and aluminum minerals: Enzyme activity, kinetics and stability studies. *Colloids Surf B Biointerfaces.*114:342-8

POSTER SESSION 1:

LES MICROORGANISMES PHOTOSYNTHÉTIQUES DES SOLS (MICRO-ALGUES ET CYANOBACTÉRIES) COMME BIOINDICATEURS DES STRESS PHYTOSANITAIRES.

MARRAUD Christelle¹, RIMET Frédéric², MALLET Clarisse³, BERARD Annette⁴,
CROUZET Olivier¹.

(1) UR INRA 251 PESSAC, 78026 Versailles cedex.

(2) UMR INRA 0042 CARTELE, Université de Savoie, 74203 Thonon-les-Bains Cedex.

(3) UMR CNRS 6023 LMGE, Université Blaise Pascal, 63000 Clermont-Ferrand.

(4) UMR INRA/UAPV 1114 EMMAH, F-84914 Avignon.

Les indicateurs microbiens plus ou moins normalisés utilisés pour évaluer les impacts des pratiques agricoles ou de contaminations, manquent de sensibilité et de généralité vis-à-vis des stress phytosanitaires. Les microorganismes phototrophes édaphiques majoritairement représentés par des cyanobactéries et micro-algues constituent un modèle biologique innovant à promouvoir pour le développement de bioindicateurs d'exposition aux herbicides. En effet, ils pourraient être plus sensibles et plus directement impactés par les herbicides, que les bactéries et champignons qui sont le plus souvent étudiés. Néanmoins, les connaissances disponibles sur la biodiversité et les réponses de ces communautés microbiennes photosynthétiques, aux stress (environnementaux, contaminants) sont limitées dans les sols agricoles. Le projet COMIPHO vise à évaluer leur potentiel bioindicateurs, à l'égard de stress herbicide. Un des objectifs est de développer des marqueurs et approches moléculaires permettant de suivre leur diversité et structure génétique. Divers marqueurs génétiques de ces communautés sont déjà utilisés en milieu aquatique. En fonction des exigences des méthodes moléculaires choisies (qPCR, fingerprint, séquençage), des compromis de taille d'amplicons et de spécificité vis-à-vis de divers groupes taxonomiques ont été nécessaires. Des tests de faisabilité sont en cours, afin de caractériser les communautés de cyanobactéries et de diatomées (marqueurs spécifiques) ou les micro-algues dans leur ensemble (marqueurs généralistes), sous différents systèmes de cultures (biologique vs. conventionnel). Afin de caractériser les taxons tolérants ou sensibles aux herbicides, tout en s'affranchissant des facteurs édaphiques, des expérimentations en cosmes sont également analysés.

Références bibliographiques :

- Bérard A., Rimet F.,** Capowiez Y., Leboulanger C. (2004) Procedures for determining the pesticide sensitivity of indigenous soil algae - a possible bioindicator of soil contamination? Archives of Environmental Contamination and Toxicology 46: 24-31.
- Valiente Moro C., **Crouzet O.**, Rasconi S., Thouvenot A., Coffe G., Batisson I., and Bohatier J. (2009) New Design Strategy for Development of Specific Primer Sets for PCR-Based Detection of Chlorophyceae and Bacillariophyceae in Environmental Samples. Applied and Environmental Microbiology 75, 5729-5733.
- Crouzet O.** Wiszniowski J., Bonnemoy F., Donnadieu F., Bohatier J., **Mallet C.** (2012) Dose-dependent effects of the herbicide mesotrione on soil cyanobacterial communities. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 10.1007/s00244-012-9809-9.

POSTER SESSION 1:

REAL TIME ANALYSIS OF WATER QUALITY WITH GENOBIOSENSORS

Nathalie Paniel^{1 et 2}, *Lise Barthelmebs*², *Julia Baudart*¹

1 : Université Pierre et Marie Curie (Paris 6), Observatoire Océanologique, Laboratoire de Biodiversité et Biotechnologies Microbiennes-LBBM, USR 3579 - UPMC- CNRS, 66650 Banyuls-sur-Mer- France

2: IMAGES EA 4218, Groupe Biocapteurs, Bâtiment S, Université de Perpignan Via Domitia, 52 Avenue Paul Alduy, 66860 Perpignan cedex - France

Bacteriological control of water quality requires the detection and quantification of a fecal contamination indicator to signal the presence of a potential harmful pathogen of fecal origin. Among the indicators of fecal contamination, *Escherichia coli* is now recognized in Europe as the best one by the European Bathing Water Quality Directive (EEC, 2006). The standard methods allow the detection and counting of *E. coli* in 18 hours, hence the need to develop a new alternative method for the rapid detection of *E. coli* in sea water and freshwater to perform a real-time monitoring of fecal pollution in waters. Therefore we developed an enzymatic assay in microplate and an electrochemical genobiosensor with DNA-probe to detect *E. coli* via its nucleic acids (DNA) regardless of the viability of the strain. The enzymatic assay and the genobiosensor are developed by working with complementary strands of synthetic DNA and purified samples of DNA of *E. coli*. Polystyrene microplates and screen-printed electrodes (SPE) were used as supports for the immobilization of single stranded DNA fragments (probe). The hybridization of complementary strands (target) was revealed in the case of the microplate assay with a spectrophotometer after the addition of a colorimetric mediator and for the biosensor by amperometric detection by modifying of the electrochemical signal from the DNA. These approaches allow for the detection and quantification of 10^2 to 10^3 cells of *E. coli* in 5 liters of seawater samples in less than 5 hours. Detection was achieved without a nucleic acid amplification step.

Références bibliographiques :

- Paniel, N., & Baudart, J. (2013). Colorimetric and electrochemical genosensors for the detection of *Escherichia coli* DNA without amplification in seawater. *Talanta*, 115(0), 133-142.
- Paniel, N., Baudart, J., Hayat, A., & Barthelmebs, L. (2013). Aptasensor and genosensor methods for detection of microbes in real world samples. *Methods*, 64(3), 229-240.
- Hayat A, Barthelmebs L, Marty JL. (2012). Electrochemical impedimetric immunosensor for the detection of okadaic acid in mussel sample *Sensors Actuators B*. 171–172:810

POSTER SESSION 1:

BIOCHEM-ENV, UNE PLATEFORME AU SERVICE DE LA CARACTERISATION BIOCHIMIQUE DES SOLS

Cheviron Nathalie^{1,2}, Grondin Virginie^{1,2}, Nélieu Sylvie^{1,2} et Mougin Christian^{1,2}

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

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

Le projet ANAEE France (<http://www.anaee-s.fr>) propose de comprendre et de prédire la dynamique de la biodiversité et des écosystèmes dans un contexte de changement global. Il va permettre de progresser sur la compréhension des interactions gènes/environnement au travers de plateformes expérimentales et de modélisation dédiées à la biologie des écosystèmes continentaux, terrestres et aquatiques. Dans ce cadre large, la plateforme Biochem-Env (<http://www.biochemenv.fr>) a pour objectif de fournir des installations et des services de caractérisation biochimique des sols, plus généralement des milieux naturels, et de la macrofaune associée. Elle a été créée en 2012 avec le soutien de l'INRA et du projet ANAEE France.

La plateforme Biochem-Env a deux missions principales :

- permettre le développement et la veille technologique sur les outils de caractérisation biochimique de matrices environnementales solides, et de la macrofaune terrestre et benthique.
- Construire un Système d'Information Environnementale (référentiel diversité fonctionnelle) pour gérer la traçabilité des échantillons et des données de caractérisation biologique des sols et de la macrofaune.

Mobilisable dans le cadre de projets de recherche collaboratifs, l'offre de cette plateforme va du conseil (échantillonnage, protocoles et analyses de données), à la formation technique, en passant par une implication dans les programmes de recherche régionaux, nationaux et internationaux.

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

SESSION 2

Mécanismes adaptatifs,
résilience des communautés et
des fonctions microbiennes

UTILISATION DES MECANISMES D'ADAPTATION MICROBIENNE POUR CARACTERISER LES CONSEQUENCES ECOLOGIQUES DE L'INTERDICTION D'UTILISATION DU DIURON EN ZONE VITICOLE

FOULQUIER Arnaud¹, MARTIN-LAURENT Fabrice², ROUARD Nadine², MARGOUM Christelle¹, PESCE Stéphane¹

(1) Irstea, UR MALY, 5 rue de la Doua, CS70077, 69626 Villeurbanne Cedex, France

(2) INRA, UMR 1347 Agroécologie, 17 rue Sully, B.P. 86510, 21065 Dijon Cedex

Les communautés microbiennes présentent une forte capacité de réponse et d'adaptation aux changements environnementaux. Elles constituent donc potentiellement des indicateurs de perturbation ou d'amélioration de la qualité des milieux, notamment en termes de pollution chimique. Deux approches ciblées sur l'étude des capacités adaptatives des communautés microbiennes semblent particulièrement prometteuses pour établir *in situ* des liens entre les niveaux d'exposition aux toxiques et leurs effets sur le compartiment microbien. Il s'agit i) des approches PICT (Pollution Induced Community Tolerance) qui visent à mesurer et suivre l'évolution du niveau de tolérance des communautés microbiennes aux toxiques et ii) des approches focalisant sur les capacités de biodégradation des pesticides organiques par les microorganismes hétérotrophes.

De ce fait, nous avons mené un suivi à long-terme (2008-2011) sur une rivière située dans la zone viticole du Beaujolais afin d'évaluer l'intérêt de ces deux types d'approches pour appréhender les conséquences écologiques de l'interdiction d'utilisation du diuron (effective en décembre 2008), principal herbicide détecté dans le cours d'eau depuis de nombreuses années. Les résultats montrent que l'interdiction d'utilisation du diuron a engendré une diminution du niveau de contamination du cours d'eau se traduisant par une diminution progressive i) des capacités de tolérance des biofilms phototrophes à ce toxique et ii) des capacités des communautés sédimentaires à le dégrader. Les conclusions de cette étude offrent donc des perspectives particulièrement intéressantes en vue de développer des approches de bioindication basées sur ces mécanismes d'adaptation microbienne.

Références bibliographiques :

- Pesce S, Margoum C, Rouard N, Foulquier A, Martin-Laurent F (2013) Freshwater sediment pesticide biodegradation potential as an ecological indicator of microbial recovery following a decrease in chronic pesticide exposure: A case study with the herbicide diuron. *Ecological Indicators* 29: 18-25.
- Montuelle B, Dorigo U, Bérard A, Volat B, Bouchez A, Tlili A, Gouy V, Pesce S (2010) The periphyton as a multimetric bioindicator for assessing the impact of land use on rivers: an overview of the Ardières-Morcille experimental watershed, *Hydrobiologia*, 657: 123-141.
- Pesce S, Margoum C, Montuelle B (2010) In situ relationships between spatio-temporal variations in diuron concentrations and phototrophic biofilm tolerance in a contaminated river. *Water Research* 44: 1941-1949.

EXPOSITION ET L'IMPACT À LONG-TERME DES ÉLÉMENTS TRACES MÉTALLIQUES SUR LE FONCTIONNEMENT MICROBIEN DE SOLS AYANT REÇUS DES AMENDEMENTS : INTÉRÊT DE L'APPROCHE PICT.

CROUZET Olivier, Marine ALBERTELLI, Gaétane LE PROVOST, Rowena CINELLI, Amélie TROUVE, Virginie GRONDIN, Christelle MARRAUD, Sébastien BREUIL, Folkert van OORT, Isabelle LAMY.

(1) UR INRA 251 PESSAC (*Physico-chimie et Ecotoxicologie des Sols d'Agrosystèmes Contaminés*), 78026 Versailles cedex.

L'épandage d'eaux usées et de boues de STEP sur les sols agricoles permet leur recyclage et leur valorisation en tant que fertilisants, mais aussi selon la récurrence des apports, induire des apports peut conduire à une multi-contamination par divers contaminants, avec entre autre une accumulation d'éléments traces métalliques (ETM) qui peuvent atteindre des concentrations à risque pour le fonctionnement biologique des sols. L'enjeu majeur en évaluation du risque réside dans la caractérisation des relations exposition – impacts à long-terme. Cependant, les notions de biodisponibilité des contaminants et d'adaptation des microorganismes ne sont pas suffisamment considérées. Dans le cadre de ce travail, l'horizon de labour d'un sol agricole irrigué pendant près d'un siècle avec des eaux usées, a été échantillonné suivant des transects intégrant des gradients de contamination en ETM. Les résultats démontrent une corrélation positive entre les teneurs totales en ETM (Zn, Cu, Cd, Pb) et celles en Corg (et autres nutriments), du fait d'apports simultanés par l'irrigation. Les fractions extractibles (CaCl₂, EDTA) sont corrélées aux teneurs totales. Les activités microbiennes (respiration basale et induite, activités enzymatiques extracellulaires, nitrification) sont dans l'ensemble positivement corrélées aux teneurs en nutriments (C et N) et aux ETM. L'augmentation des teneurs en Corg et nutriments le long des gradients en ETM, pourrait limiter la biodisponibilité des formes d'ETM impactantes, tout en favorisant l'activité microbienne. De plus, une approche PICT (Pollution Inducing Community Tolerance), révèlent l'acquisition de tolérance fonctionnelle dépendant des teneurs en ETM. Les évolutions de la structure génétique des communautés bactériennes et fongiques suggèrent un possible remplacement des populations microbiennes sensibles par des tolérantes.

Références bibliographiques :

- Crouzet O., Wiszniowski J., Bonnemoy F., Donnadiou F., Bohatier J., Mallet C. (2012) Dose-dependent effects of the herbicide mesotrione on soil cyanobacterial communities. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 10.1007/s00244-012-9809-9.
- Crouzet O., Le Provost G., Cinelli R., Trouvé A., Marraud C., Lamy I., van Oort F. Impact of long-term heavy-metal contamination following waste water irrigation, on soil microbial communities : a case field study. (soumission à *Science of Total Environment*).
- Iqbal M., Bermond A., Lamy I. 2013. Impact of miscanthus cultivation on trace metal availability in contaminated agricultural soils: Complementary insights from kinetic extraction and physical fractionation. *Chemosphere*, 91, 287-94.

POSTER SESSION 2:

OPTIMISATION DES TESTS DE TOXICITÉ POUR SUIVRE L'ADAPTATION DE BIOFILMS PHOTOTROPHES A UNE EXPOSITION CHRONIQUE AU CUIVRE DANS LE CADRE D'APPROCHES PICT.

Anne-Sophie Lambert, Aymeric Dabrin, Arnaud Foulquier, Josiane Gahou, Marina Coquery, Stéphane Pesce,
Irstea, UR MALY, 5 rue de la Doua, CS70077, 69626 Villeurbanne Cedex, France

Le concept PICT “pollution-induced community tolerance”, introduit par Blanck et al (1988), est un outil ecotoxicologique permettant de suivre les dynamiques d'adaptation et de récupération des communautés microbiennes aquatiques suite à une exposition chronique aux toxiques. Cette méthode repose sur la comparaison des niveaux de tolérance de communautés naturelles à un contaminant ou à un mélange de contaminants, en utilisant des tests de toxicité à court terme, réalisés en conditions contrôlées. Lorsque l'on considère les communautés microbiennes phototrophes, la production primaire est le paramètre le plus fréquemment utilisé pour l'évaluation du niveau de tolérance. Cependant, durant les tests de toxicité, la réponse de ces communautés peut être modulée par des paramètres expérimentaux et environnementaux. Cela soulève donc la question de la reproductibilité des résultats et de leur comparabilité entre les différentes études. Afin de contribuer à une meilleure standardisation des protocoles utilisées dans les approches PICT, l'objectif de notre étude est d'identifier les principaux paramètres à prendre en considération lors de l'évaluation des niveaux de tolérance de communautés phototrophes benthiques aux métaux, en prenant comme modèle cuivre.

Nos résultats montrent l'absence d'influence de la durée d'incubation sur la mesure de tolérance des communautés microbiennes phototrophes au cuivre, alors que le niveau de tolérance au toxique augmente avec l'âge du biofilm. Les CE_{50} et CE_{10} mesurées sont également très fortement conditionnées par la concentration en chlorophylle et la biomasse totale dans la suspension de biofilm utilisée lors des tests de toxicités. Ces résultats montrent donc la nécessité de standardiser la méthode.

Références bibliographiques :

- Lambert AS, Morin S, Artigas J, Volat B, Coquery M, Neyra M, Pesce S (2012). Structural and functional recovery of microbial biofilms after a decrease in copper exposure: Influence of the presence of pristine communities. *Aquatic Toxicology* 109: 118-126.
- Larras F, Lambert AS, Pesce S, Rimet F, Bouchez A, Montuelle B (2013). The effect of temperature and a herbicide mixture on freshwater periphytic algae. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 98: 162-170.
- Pesce S, Margoum C, Montuelle B (2010). In situ relationships between spatio-temporal variations in diuron concentrations and phototrophic biofilm tolerance in a contaminated river. *Water Research* 44: 1941-1949.

SESSION 3

Bioremédiation, biodégradation,
décontamination, biodisponibilité

PROBABIO : VERS DE NOUVELLES STRATEGIES D’EVALUATION DE LA BIODEGRADATION

BRILLET François 1, MAUL Armand 2, DURAND Marie-José 1, THOUAND Gérald 1.

(1) *Laboratoire de Génie des Procédés en Environnement et en Agroalimentaire (GEPEA) UMR CNRS 6144, Université de Nantes, IUT GB, 85000 Roche sur Yon, France* (2) *Laboratoire Interdisciplinaire des Environnements Continentaux (LIEC), UMR CNRS 7360, Université de Lorraine, 57045 METZ, France.*

La biodégradation peut se définir comme étant la capacité d’un microorganisme ou d’une communauté microbienne à dégrader une molécule présente dans un milieu comme seule source de carbone. Les essais normés pour quantifier la biodégradation, repris par la directive européenne REACH (Régulation (EC) N°1907, 2006), se basent sur l’inoculation de bactéries d’un échantillon environnemental dans un bioréacteur. Cependant, ces essais ne prennent pas en compte les variabilités qui peuvent exister entre deux environnements et sont donc souvent peu reproductibles voir mêmes contradictoires *inter* et *intra* laboratoire. De plus, ils ne tiennent pas compte des biais que peuvent engendrer un changement de température dans la nature (variabilité saisonnière), ni même de l’impact que peuvent avoir les paramètres de testing *in vitro* imposés par les normes (densité cellulaire initiale, température d’incubation)¹. Les résultats des tests de biodégradation peuvent donc être en contradiction avec le devenir environnemental d’une molécule.

Le projet de recherche ProbaBio² propose d’établir les relations entre la réussite, ou non, d’un test de biodégradation et les paramètres qui le régissent et l’influencent. Pour y répondre, la biodégradation de cinq molécules chimiques a été testée tous les mois pendant un an, dans dix environnements différents, à deux températures d’incubation et à deux densités cellulaires différentes. Grâce à une plateforme de screening développée dans le cadre du projet³, la matrice de résultats générée donne, pour les molécules testées, une vision plus réaliste et expliquée de leur persistance environnementale.

Références bibliographiques :

1. Thouand, G. et al. Bacterial Inoculum Density and Probability of para-Nitrophenol Biodegradability Test Response. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 30, 274–282 (1995).
2. Thouand, G., Durand, M.-J., Maul, A. & Blok, H. New concepts in the evaluation of biodegradation/persistence of chemical substances using a microbial inoculum. *Front. Microbiotechnology Ecotoxicol. Bioremediation* 2, 164 (2011).
3. Cregut, M., Jouanneau, S., Brillet, F., Durand M.J., Sweetlove, C., Chenèble, J.C., L’Haridon, J., Thouand, G. High throughput and miniaturised systems for biodegradability assessments. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* (2013).

ÉCOLOGIE MICROBIENNE DE LA DÉGRADATION DE L'ETBE ET DU MTBE : DIVERSITÉ BACTÉRIENNE ET EXPRESSION DE GÈNES

DEMANECHE Sandrine¹, LE DIGABEL Yoann^{1,2}, JABAR Nora¹, BENOIT Yves², FAYOLLE-GUICHARD Françoise², VOGEL Timothy M¹.

¹ *Groupe de génomique microbienne environnemental, Laboratoire AMPERE, Ecole Centrale de Lyon, Université de Lyon, 36 avenue Guy de Collongue 69134 Ecully Cedex.*

² *Institut Français du Pétrole Energies Nouvelles (IFPEN), Département Biotechnologie, 1-4 avenue de Bois-Préau, 92852, Rueil-Malmaison, France*

L'éthyl tert-butyl éther (ETBE) et le méthyl tert-butyl éther (MTBE) sont des éthers carburants utilisés comme additifs des essences qui représentent un risque sanitaire du fait de cas avérés de pollutions d'aquifères.

L'objectif de ces travaux était d'étudier comment les communautés microbiennes et les souches isolées de sites pollués réagissent en présence d'ETBE et de MTBE, quelles bactéries sont capables de les dégrader et comment cette dégradation est régulée dans ces bactéries.

Pour cela, des études des cinétiques de dégradation de l'ETBE ou du MTBE ont montré que la dégradation était généralement lente et s'accompagnait d'un faible rendement en biomasse.

En complément, des techniques d'empreinte moléculaire et l'analyse des gènes codant l'ARNr 16S ont montré la prédominance de protéobactéries dans trois environnements, d'acidobactéries dans un autre, ainsi qu'une composition plus hétérogène dans le cinquième.

Enfin, plusieurs gènes connus comme étant impliqués dans la dégradation des éthers carburants ont pu être détectés. Leur séquençage met en évidence la possibilité de transferts horizontaux, notamment dans le cas du gène *ethB* extrêmement conservé (99%) dans des souches phylogénétiquement éloignées. Les conditions d'expression des gènes clés ont été étudiées. Il semblerait que le gène *mdpA* (MTBE monooxygénase) soit spécifiquement induit en présence de MTBE. Les gènes *ethB* (cytochrome P450 monooxygénase) et *ethR* (régulateur des gènes de l'opéron *eth*) sont au contraire exprimés de manière constitutive en présence ou en absence d'ETBE, le système enzymatique codé n'est donc pas activé par la présence du polluant et pourrait avoir d'autres fonctions dans la bactérie.

Références bibliographiques :

Y. Le Digabel, S. Demanèche, Y. Benoit, T. M. Vogel and F. Fayolle-Guichard (2013) Ethyl tert-butyl ether (ETBE) biodegradation by a syntrophic association of *Rhodococcus* sp. IFP 2042 and *Bradyrhizobium* sp. IFP 2049 isolated from a polluted aquifer. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97 :10531-10539.

LA CHLORDECONE EST-ELLE BIODEGRADABLE ?

SAAIDI Pierre-Loïc*, UGARTE Edgardo*, CHAUSSONNERIE Sébastien, BARBANCE Agnès, Laurence MARIE, FOSSEY Aurélie, BRÛLS Thomas, BARBE Valérie, GYAPAY Gabor, FONKNECHTEN Nuria, WEISSENBACH Jean, LE PASLIER Denis

* Egale contribution

CEA/DSV/Institut de Génomique, Genoscope & CNRS UMR8030, 91057 Evry cedex, France

La chlordécone (Kepone®) est un composé organochloré synthétique (C₁₀Cl₁₀O) utilisé dans diverses régions du globe pour lutter contre un large éventail de parasites agricoles dont le charançon du bananier aux Antilles françaises. La persistance de la chlordécone dans les sols, sa présence et sa toxicité pose de nombreux problèmes de santé publique, socio-économiques et politiques.

Afin d'étudier la possible biodégradation de la chlordécone, des cultures microbiennes d'enrichissement en anaérobiose ont été initiées à partir de microcosmes et analysées au cours du temps. Les propriétés physico-chimiques de la chlordécone et les doses massives employées (saturation) ont rendu impossible sa quantification de façon fiable, le suivi de son éventuelle disparition ainsi que le suivi de la croissance bactérienne. Des analyses chimiques (GC/MS) ont cependant permis de détecter de nombreux composés chlorés dérivés de la chlordécone dont une quinzaine jamais été mis en évidence jusque-là.

De façon intéressante, plusieurs cultures microbiennes inoculées avec des quantités plus faibles de chlordécone montrent l'apparition et l'accumulation de plusieurs de ces métabolites dont un très nettement majoritaire ainsi que la quasi-disparition de la chlordécone. Ces cultures sont en cours d'analyse par différentes méthodes (chimie analytique, microbiologie et métagénomique). L'analyse par spectrométrie de masse a permis de déterminer la formule brute des métabolites chlorés. Des cultures à plus grande échelle ont été lancées afin de les isoler et de déterminer leur structure exacte. Enfin, tout comme la chlordécone au démarrage du projet, ces métabolites serviront dans de nouvelles cultures microbiennes d'enrichissement afin de poursuivre le processus de dégradation.

Références bibliographiques :

1. Bertin PN, Heinrich-Salmeron A, Pelletier E, Goulhen-Chollet F, ..., Médigue C, Le Paslier D (2011) Metabolic diversity among main microorganisms inside an arsenic-rich ecosystem revealed by meta- and proteo-genomics. *The ISME journal* 5: 1735-1747.
2. Pelletier E, Kreimeyer A, Bocs S, Rouy Z, Gyapay G, Chouari R, Rivière D, Ganesan A, Daegelen P, Sghir A, Cohen GN, Médigue C, Weissenbach J, Le Paslier D (2008) "*Candidatus* Cloacamonas acidaminovorans": genome sequence reconstruction provides a first glimpse of a new bacterial division. *J Bacteriol* 190: 2572-2579
3. Strous M, Pelletier E, Mangenot S, Rattei T, Lehner A, Taylor MW, Horn M, Daims H, Bartol-Mavel D, Wincker P, Barbe V, Fonknechten N, Vallenet D, ... Huynen MA, Mewes H-W, Weissenbach J, Jetten MSM, Wagner M, Le Paslier D (2006) Deciphering the evolution and metabolism of an anammox bacterium from a community genome. *Nature* 440: 790-794

EXPLORATION DE LA BIOVERSITE DE CHAMPIGNONS TELLURIQUES SAPROTROPHES POUR LA REMEDIATION DES SOLS POLLUES PAR DES POLLUANTS ORGANIQUES PERSISTANTS (POP)

RAFIN Catherine¹, FAYEULLE Antoine¹, DELSARTE Isabelle¹, ROSU Ana Maria², VEIGNIE Etienne¹

(1) *Université du Littoral Côte d'Opale ULCO, Unité de Chimie Environnementale et Interactions sur le Vivant EA 4492, Dunkerque, 59140, France*

(2) *University 'Vasile Alecsandri' of Bacau, Faculty of Engineering, Department of Food Products Engineering, Bacau, 600115, Romania*

Ces recherches ont été déclinées en différentes étapes: 1/ réalisation d'une mycothèque de souches fongiques saprotrophes isolées de sols industriels historiquement contaminés par des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP), 2/ criblage des isolats pour leurs capacités à dégrader en milieu de culture minéral le benzo[a]pyrène (BaP) comme modèle d'HAP de haut poids moléculaire (composé de 5 cycles aromatiques et présentant une très faible solubilité) ou en matrices complexes (sols pollués historiquement) les 16 HAP de l'US-EPA 3/ recherche d'activités enzymatiques, 4/ d'un point de vue physiologique, étude des mécanismes spécifiques impliqués dans l'incorporation, le transport et le stockage du BaP chez *Fusarium solani* (Nectriaceae, Ascomycota). Afin de potentialiser l'efficacité de la dégradation fongique des POP, le développement d'un nouvel axe de recherche sur les capacités de polysaccharides naturels (de type amidon modifié par alkylation) à augmenter la solubilité des POP est entrepris. Enfin, l'utilisation de méthodes d'oxydation 1/ soit par des procédés d'oxydation chimique avancée utilisés seuls (basés sur la production dans le milieu d'entités très réactives et très oxydantes) 2/ soit par une oxydation chimique douce pour initier l'ouverture des cycles aromatiques des polluants couplée à une oxydation biologique par des champignons (simultanément ou séquentiellement) est envisagé. Ces approches pourront être déclinées pour un large panel de familles de polluants organiques (HAP, dioxines) dans divers environnements contaminés (sols, sédiments, eaux). La finalité de ces recherches est de développer des systèmes catalytiques éco-compatibles préservant l'intégrité du sol dans une optique de bioremédiation fongique des sols pollués par les POP.

Références bibliographiques :

- Fayeulle A, Veignie E, Slomianny C, Dewailly E, Munch JC, Rafin C (sous presse). Energy-dependent uptake of benzo[a]pyrene and its cytoskeleton-dependent intracellular transport by the telluric fungus *Fusarium solani*. *Environmental Science and Pollution Research*, doi 10.1007/s11356-013-2324-3.
- Rafin C, Foucault B, Veignie E (2013). Exploring micromycetes biodiversity for screening benzo[a]pyrene degrading potential. *Environmental Science and Pollution Research*, 20:3280-3289.
- Rosu AM, Rafin C, Surpateanu G, Brabie G, Miron DN, Veignie E. 2013. Synthesis of alkylated potato starch derivatives and their potential in the aqueous solubilisation of benzo[a]pyrene. *Carbohydrate Polymers*, 93:184-190.

REGULATION TOP-DOWN (VIRUS ET FLAGELLES) DE LA DEGRADATION DU PETROLE PAR LES BACTERIES

SAURET Caroline, BÖTTJER Daniela, TALLARMIN Agathe, GUIGUE Catherine, CONAN Pascal, PUJO-PAY Mireille, GOUTX Madeleine, GHIGLIONE Jean-François

Laboratoire d'Océanographie Microbienne (UMR7621) Av. Fontaulé – 66650 Banyuls/mer

L'ajout de sels nutritifs qui sont limitant pour la dégradation des hydrocarbures en milieu marin (contrôle « bottom-up ») est la solution la plus efficace de bioremédiation des pollutions pétrolières qui restent particulièrement importantes en mer Méditerranée. Néanmoins, peu de travaux se sont intéressés au contrôle par les prédateurs (contrôle « top-down ») lorsque la limitation par les ressources est levée, alors qu'elle est susceptible de jouer un rôle essentiel dans la régulation de la diversité et de l'activité des bactéries hydrocarbonoclastes.

Nous avons imaginé une expérience originale pour évaluer l'effet exclusif du « top-down » sur la biodégradation des hydrocarbures en simulant un apport de pétrole dans le cadre d'une biostimulation contrôlée (pas de limitation « bottom-up »). Nous avons pu ainsi mettre en évidence un cycle proie-prédateur avec un contrôle « top-down » largement dominé par les virus ayant pour effet d'importants remaniements des communautés bactériennes à la fois en termes de biomasse, d'activité et de diversité. L'analyse des changements de diversité par pyroséquençage ont montré que certaines groupes bactériens sont particulièrement sensibles à la prédation par les flagellés et/ou la lyse virale comme le genre *Vibrio*, alors que d'autres au contraire comme *Percisivirga*, *Oleispira* et *Methylophaga*, s'avèrent moins sensibles à la prédation, révélant leur rôle central dans la dégradation du pétrole. La forte influence des virus n'a pas provoqué de diminution dans la biodégradation des hydrocarbures par les bactéries, provoquant même un regain d'activité de la communauté microbienne globale. Ce résultat original souligne l'importance de prendre en compte la boucle microbienne dans son ensemble pour mieux comprendre le processus de biodégradation des hydrocarbures.

Mots-clés : bioremédiation, pollution pétrolière, pyroséquençage, écologie microbienne

Références bibliographiques :

SAURET C, CHRISTAKI U, MOUTSAKI P, HATZIANESTIS I, GOGOULA A, GHIGLIONE JF (2012) Influence of pollution history on the response of coastal bacterial and nanoeukaryote communities to crude oil and biostimulation assays. *Marine Environmental Research* 79: 70-78.

RODRIGUEZ-BLANCO A, DUVAL A, PELLETIER E, DELILLE D, GHIGLIONE JF (2013) Effects of temperature and fertilization on the structure of total vs. active bacterial communities from sub-Antarctic seawater exposed to crude oil and diesel fuel. *Polar Research* 32:18521-18531

DEVENIR DES NANOPARTICULES DE DIOXYDE DE TITANE (TiO₂) DANS LES SOLS ET CONSEQUENCES SUR LA BIODIVERSITE BACTERIENNE

Marie SIMONIN^{1,2}, Jean M.F. MARTINS², Thomas POMMIER¹, Julien P. GUYONNET¹ and Agnès RICHAUME¹

(1)Laboratoire d'Ecologie Microbienne, UMR CNRS 5557, Université Lyon1, Université de Lyon, 43 Bd du 11 Novembre 1918, Lyon 1-69622 Villeurbanne cedex. (2)LTHE, UMR CNRS 5564, Université Joseph Fourier Grenoble 1-38041 Grenoble Cedex 9.

Les nanoparticules manufacturées de dioxyde de titane (TiO₂-NP) sont des polluants émergents dont la concentration augmente dans les sols en raison de leur utilisation croissante dans de nombreux produits commerciaux de la vie courante. Des études *in vitro* ont démontré la toxicité des TiO₂-NP pour les microorganismes, mais il existe peu de données sur l'écotoxicité de ces composés dans les sols dans des conditions d'exposition réalistes.

Les propriétés physico-chimiques des TiO₂-NP sont fortement influencées par les conditions environnementales (pH, matière organique...) ce qui est susceptible d'affecter leur mobilité et leur biodisponibilité dans les sols. Cette étude porte sur le transfert des TiO₂-NP et à leur impact sur les communautés microbiennes dans 6 sols agricoles aux propriétés contrastées.

La caractérisation des TiO₂-NP directement dans la matrice du sol n'est techniquement pas possible à l'heure actuelle. Cette limitation a été contournée en déterminant leur taille et leurs charges de surface dans des solutions de sol. La mobilité des nanoparticules a été étudiée à partir de colonnes de sols en suivant la concentration en titane retrouvée dans les effluents par ICP-OES. Des mesures d'activités microbiennes (respiration, nitrification) et de diversité des gènes ribosomiaux des bactéries totales et fonctionnels (*amoA*) des nitrifiants par séquençage à haut-débit (MiSeq, Illumina) ont permis d'évaluer l'impact des TiO₂-NP (1 et 500 mg/kg sol) sur les communautés microbiennes, après 90 jours d'incubation.

Ce travail démontre l'intérêt d'une approche pluridisciplinaire combinant l'étude de l'écodynamique des contaminants et l'écotoxicologie microbienne pour déterminer quels paramètres du sol influencent la biodisponibilité des nanoparticules.

Références bibliographiques :

- Ghiglione JF, Galand PE, Pommier T, et al. (2012) Pole to pole biogeography of surface and deep marine bacterial communities. PNAS, 109:17633-8.
- Navel A, Martins JMF, (2014). Effect of long term organic amendments and vegetation of vineyard soils on the microscale distribution and biogeochemistry of copper. Science of The Total Environment, 466: 681-689.
- Vitorge E, Szenknect S, Martins JMF, et al. (2014). Comparison of three labeled silica nanoparticles used as tracers in transport experiments in porous media. Part II: Transport experiments and modeling. Environmental Pollution, 184: 605-612.

MYCOREMÉDIATION DES PCB PAR DES SOUCHES D'ASCOMYCÈTES ISOLEES D'HABITATS POLLUÉS

Sophie Perigon, Lucile Sage, Mathieu Faure, Roberto A Geremia, Bello Mouhamadou

Laboratoire d'Ecologie Alpine LECA, UMR 5553 CNRS Université Joseph Fourier Grenoble 1, 38041

Grenoble cedex 9, France.

La présence dans l'environnement de polluants comme les polychlorobiphényles (PCB) peut affecter de façon notable le fonctionnement global des différents écosystèmes. L'utilisation de microorganismes vivants capables de dégrader les éléments toxiques peut constituer une alternative rentable et efficace. Parmi ces microorganismes, les champignons ont la capacité de s'adapter avec une grande plasticité à la présence de molécules organiques et de les utiliser comme sources de nutriments. Nous avons étudié l'efficacité des souches fongiques dans la biodégradation des PCB en isolant environ 150 espèces à partir de sols et de sédiment fortement contaminés en PCB (concentration en sept PCB indicateurs: > 1000 µg/kg de matrices sèches). Le screening de ces souches en milieu liquide a conduit à la sélection de six souches d'Ascomycètes performantes (*Doratomyces nanus*, *D. purpureofuscus*, *D. verrucisporus*, *Myceliophthora thermophila*, *Phoma eupyrena* et *Thermoascus crustaceus*) montrant des capacités de biodégradation importantes. Ces souches ont été utilisées dans des pilotes de mycoremédiation en laboratoire en utilisant le sédiment ou le sol pollué. Chaque matrice polluée a été supplémentée avec 5% de paille. Des réductions importantes de PCB allant jusqu'à 33% ont été obtenues au bout de six mois de traitement. Ces réductions semblent ne concerner que la fraction biodisponible des PCB, la fraction liée à l'humus étant difficilement accessible. Le traitement a été étendu à l'échelle industrielle. L'analyse de 85 congénères de PCB confirment les résultats obtenus en pilotes de laboratoire et démontrent l'efficacité des souches d'Ascomycètes natives dans la biodégradation des PCB biodisponibles.

Références bibliographiques :

Sage L., Périgon S., Faure M., Gaignaire C., Abdelghafour M., Jacques Mehu J., Geremia RA., and Mouhamadou B. 2014. Autochthonous ascomycetes in depollution of polychlorinated biphenyls contaminated soil and sediment. *Chemosphere*. *In press*.

[Mouhamadou](#) B., Faure M., Sage L., Marçais J., Souard F., Geremia R., 2013. Potential of autochthonous fungal strains isolated from contaminated soils for degradation of polychlorinated biphenyls. *Fungal Biol.* 117: 268-274.

Shahari M., Latibari AJ., Guillet A., Arousseau M., Mouhamadou B., Rafeiee Gh., Mirshokraei A. and Parsapaghough D. 2011. Application of the white root fungus *Phanerochaete chrysosporium* in biotreatment of Bagasse storage effluent. *Biodegradation*: 22: 421-430.

POSTER SESSION 3:

ISOLEMENT ET CARACTERISATION DE SOUCHES FONGIQUES EDAPHIQUES CAPABLES DE DEGRADER UN MELANGE D'HERBICIDES

STAUFFERT Magalie^{1,2}, BARDOT Corinne^{1,2}, BOISNOIR Michaël^{1,2}, BESSE-HOGGAN Pascale^{3,4}, PERRIERE Fanny^{1,2}, JOLY Pierre^{1,2}, BATISSON Isabelle^{1,2}

(1) *Laboratoire Microorganismes : génome et environnement (LMGE) CNRS UMR 6023, BP 80026, F-63171 Aubière Cedex, France* (2) *Clermont Université, Université Blaise Pascal, LMGE, F-63000 Clermont-Ferrand, France* (3) *Institut de Chimie de Clermont-Ferrand (ICCF), CNRS UMR 6296, BP 80026, F-63171 Aubière Cedex, France* (4) *Clermont Université, Université Blaise Pascal, ICCF, F-63000 Clermont-Ferrand, France*

Les pratiques agricoles actuelles font appel à des épandages de mélanges de pesticides pour une culture donnée, entraînant une contamination multi-résidus des sols par les molécules mères et leurs métabolites. Nombre de données sont disponibles quant au devenir biotique et abiotique des pesticides utilisés seuls, mais l'impact de leur utilisation en mélange reste peu connu.

L'originalité de notre étude réside non seulement dans le fait de travailler avec un «cocktail» d'herbicides mais aussi d'étudier la capacité de biodégradation de ces composés par des souches fongiques, ce qui est rarement le cas dans la littérature.

Ainsi, nous avons isolé et caractérisé des souches fongiques édaphiques capables de résister à un mélange d'herbicides, utilisé sur les cultures de maïs, et de biotransformer certaines molécules du cocktail.

Pour cela, des cultures d'enrichissement ont été réalisées à partir d'échantillons de sol prélevés en surface d'un Biobac®. Les communautés microbiennes ont été exposées à un mélange d'herbicides composé de mésotrione, nicosulfuron et S-métolachlore, comme seule source de carbone. Les souches fongiques ont été isolées sur milieu sélectif et analysées pour leur capacité à dégrader chacun des herbicides. Cinq souches appartenant aux phyla des Ascomycètes et des Basidiomycètes ont montré leur capacité à dissiper les molécules.

Ces isolats permettront d'identifier les métabolites formés (SM, RMN) et les protéines impliquées (2D-DIGE, fractionnement) dans la transformation/dégradation de ce mélange. Ces données contribueront à évaluer le risque de l'utilisation de ce mélange d'herbicides. Ces microorganismes seront également utilisés à des fins de bioremédiation.

Références bibliographiques :

- Batissou I, Crouzet O, Besse-Hoggan P, Sancelme M, Mangot J-F, Mallet C, Bohatier J. (2009) Isolation and characterization of mesotrione-degrading *Bacillus* sp. from soil. *Environ. Pollut.*, 157: 1195-1201.
- Durand S, Sancelme M, Besse-Hoggan P, Combourieu. (2010) Biodegradation pathway of mesotrione: Complementarities of NMR, LC-NMR and LC-MS for qualitative and quantitative metabolic profiling. *Chemosphere*, 81 : 372-380.
- Joly P, Bonnemoy F, Besse-Hoggan P, Batissou I, Bohatier J., Mallet C. (2012) Impact of maize herbicides cocktail Callisto® and Dual Gold® on soil microbial communities. *IRSN Ecology*. vol. 2012, Article ID 329898, 9 pages, 2012. doi:10.5402/2012/329898

POSTER SESSION 3:

IDENTIFICATION DES GÈNES ET ENZYMES IMPLIQUÉS DANS LA DÉGRADATION DE LA MÉSOTRIONE CHEZ *BACILLUS MÉGATERIUM*

CARLES Louis^{1,2}, BESSE-HOGGAN Pascale^{3,4}, BATISSON Isabelle^{1,2}

(1) *Laboratoire Microorganismes : génome et environnement (LMGE) CNRS UMR 6023, BP 80026, F-63171 Aubière Cedex, France.* (2) *Clermont Université, Université Blaise Pascal, LMGE, F-63000 Clermont-Ferrand, France.* (3) *Institut de Chimie de Clermont-Ferrand (ICCF), CNRS UMR 6296, BP 80026, F-63171 Aubière Cedex, France.* (4) *Clermont Université, Université Blaise Pascal, ICCF, F-63000 Clermont-Ferrand, France*

La mésotrione [2-(4-méthylsulfonyl-2-nitrobenzoyl)-1,3-cyclohexanedione] est une molécule de la famille des tricétones utilisée depuis 2003 comme herbicide sélectif du maïs. Peu d'informations sont disponibles concernant son devenir dans les environnements terrestres et aquatiques. Pour pallier ce manque, une souche de *Bacillus megaterium* (IB11), isolée d'un sol agricole de la Plaine de Limagne et capable de dégrader 1 mM de mésotrione en 9 h, a permis de décrire partiellement la voie de biotransformation de cette molécule. Cinq métabolites ont été mis en évidence. La production de deux d'entre eux, l'AMBA (2-amino-4-méthylsulfonyl benzoic acid) et le MNBA (4-méthylsulfonyl-2-nitrobenzoic acid), suggèrent l'implication d'une nitroréductase, responsable de la réduction du groupe NO₂ en NH₂, et d'une hydrolase, impliquée dans le clivage des deux cycles de la molécule. Plusieurs gènes codant des isoenzymes de nitroréductases et d'hydrolases ont pu être amplifiés chez *B. megaterium* IB11. Les enzymes correspondantes ont été surexprimées après clonage dans un vecteur d'expression et seront testées pour leur capacité à transformer la mésotrione ou le MNBA. Ces travaux permettront d'identifier pour la première fois des gènes et enzymes impliqués dans la biotransformation de la mésotrione et ainsi, de compléter les voies de dégradation de cette molécule. Ces gènes pourront être également utilisés comme biomarqueurs pour évaluer la contamination des écosystèmes par la mésotrione et ses métabolites.

Références bibliographiques :

- Batissou I., Crouzet O., Besse-Hoggan P., Sancelme M., Mangot J-F., Mallet C., Bohatier J. (2009) Isolation and characterization of mesotrione-degrading *Bacillus* sp. from soil. *Environ. Pollut.*, 157 : 1195-1201.
- Durand S., Sancelme M., Besse-Hoggan P., Combourieu B. (2010) Biodegradation pathway of mesotrione : Complementarities of NMR, LC-NMR and LC-MS for qualitative and quantitative metabolic profiling. *Chemosphere*, 81 : 372-380.

SESSION 4

Influence relative des polluants et des facteurs biotiques et abiotiques sur les communautés microbiennes (multi-stress, multi-pollutions)

IMPACT D'UNE MULTICONTAMINATION MÉTALLIQUE ET ORGANIQUE SUR LE CYCLE DE L'OXYGÈNE DANS UN TAPIS MICROBIEN.

PRINGAULT Olivier¹, AUBE Johanne², BOUCHEZ Olivier³, KLOPP Christophe³, MARIETTE Jérôme³, ESCUDIE Frédéric³, SENIN Pavel³, GONI-URRIZA Marisol²

(1) Laboratoire Ecosystèmes Marins Côtiers (ECOSYM) UMR5119, Faculté des Sciences de Bizerte, 7021 Zarzouna, Tunisie, (2) Equipe Environnement et Microbiologie- UMR IPREM 5254, IBEAS BP1155, Université de Pau et des Pays de l'Adour, 64013 Pau cedex, France, (3) Plateforme Génomique Campus INRA, 24 chemin de borde rouge, 31326 Castanet-Tolosan Cedex, France

Les tapis microbiens sont des structures laminaires se développant sur des surfaces solides et associant des microorganismes autotrophes et hétérotrophes à l'échelle de quelques millimètres d'épaisseur. Ils présentent une diversité génétique et métabolique très importante qui leur confère la possibilité de se développer sur toutes les latitudes dans des environnements variés allant de l'eau douce aux milieux hyper salées, mais également dans des milieux pollués par du pétrole (Hernandez-Raquet et al. 2006) ou des métaux lourds (Rowe et al. 2007). L'objectif de ce travail est d'étudier l'impact d'une contamination multiple, associant métaux lourds et hydrocarbures, sur le cycle de l'oxygène. La contamination multiple est très fréquente dans l'environnement, et la prise en compte des effets synergiques et antagonistes des interactions entre polluants (Sharma et al. 1999) est nécessaire pour la compréhension de la réponse microbienne aux contaminations. Pour ce faire, un tapis microbien prélevé dans l'étang de Berre en avril et septembre 2012 a été incubé pendant plusieurs jours en présence d'eau de mer échantillonnée dans un bassin de rétention d'une raffinerie pétrochimique dans des conditions de température et d'éclairement simulant *in situ*. Les différentes activités métaboliques associées au cycle de l'oxygène ont été estimées à partir des profils d'oxygène mesurés avec une microélectrode. En conditions printanières, l'exposition à l'eau contaminée entraînait une très forte diminution de la production primaire dès les premières heures d'incubation, jusqu'à une complète inhibition au bout de 72h. Parallèlement, les activités respiratoires étaient elles aussi fortement inhibées suggérant un lien relativement étroit entre le compartiment autotrophe et hétérotrophe. A l'inverse en conditions estivales, les activités métaboliques de production et de respiration en présence d'eau contaminée étaient significativement stimulées par rapport au control. Ces différentes réponses pourraient s'expliquer par des différences quantitatives et qualitatives observées dans le niveau de contamination en hydrocarbures aromatiques polycycliques, mais également par la structure des communautés microbiennes dont les analyses moléculaires (phylogénétiques et phénotypiques) sont en cours. Ce travail a été réalisé dans le cadre de l'ANR FUNHYMAT (2011-2014).

Références bibliographiques :

Hernandez-Raquet G, Budzinski H, Caumette P, Dabert P, Le Menach K (2006) Molecular diversity studies of bacterial communities of oil polluted microbial mats from the Etang de Berre (France). *FEMS Microbiology Ecology* 58: 550-562.

Rowe OF, Sanchez-Espana J, Hallberg KB, Johnson DB (2007) Microbial communities and geochemical dynamics in an extremely acidic, metal-rich stream at an abandoned sulfide mine (Huelva, Spain) underpinned by two functional primary production systems. *Environmental Microbiology* 9: 1761-1771.

Sharma SS, Schat H, Vooijs R, Van Heerwaarden LM (1999) Combination toxicology of copper, zinc, and cadmium in binary mixtures: Concentration-dependent antagonistic, nonadditive, and synergistic effects on root growth in *Silene vulgaris*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 18: 348-355.

VARIATIONS SPATIALES DE STRUCTURE GÉNÉTIQUE DE COMMUNAUTÉS MICROBIENNES BENTHIQUES CÔTIÈRES SELON UN GRADIENT DE MULTI-CONTAMINATIONS CHIMIQUES

MISSON Benjamin¹, LAUGA Béatrice², GARNIER Cédric¹, GHIGLIONE Jean-François³, DURAN Robert² et PRINGAULT Olivier^{4,5}

(1) *PROTEE, EA 3819, Université de Toulon, 83957 La Garde, France* - (2) *IPREM, EEM, UMR 5254, Université de Pau & Pays de l'Adour, IBEAS, F-64013 Pau, France* - (3) *LOMIC, UMR 7621, Observatoire Océanologique de Banyuls, 66650 Banyuls/mer, France* - (4) *ECOSYM, UMR 5119, Univ Montpellier 2, F-34095 Montpellier, France* - (5) *Laboratoire de Biosurveillance de l'Environnement, Faculté des Sciences de Bizerte, Zarzouna 7021, Tunisie*

Ecotone entre un milieu terrestre très urbanisé et la mer Méditerranée, la rade de Toulon est un écosystème marin côtier soumis à une importante pression anthropique, source d'apports en multiples polluants inorganiques et organiques. Une cartographie géochimique des sédiments de la rade a notamment démontré d'importants gradients de contamination en métaux lourds, avec des variations de concentrations de plusieurs ordres de grandeur¹. De part leur toxicité, ces multiples contaminants peuvent avoir un impact sur la biodiversité des microorganismes benthiques^{2,3}. Analyser l'impact synergique de multiples contaminations sur les communautés microbiennes requiert néanmoins de disposer d'une caractérisation physico-chimique précise du milieu pour distinguer les influences respectives des ressources, du fond géochimique et des apports anthropiques. A partir d'une cartographie physico-chimique détaillée de la surface des sédiments de la rade de Toulon, l'influence synergique des métaux/métalloïdes (As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Sn, Zn), des composés organométalliques (MeHg, SBT), et des polluants organiques (PCB, HAP) sur la structure génétique et la diversité des communautés bactériennes et archéennes benthiques a été évaluée. La structure génétique de ces deux communautés est apparue très fortement liée à la signature chimique des sédiments, les polluants métalliques expliquant à eux seuls jusqu'à 60% de la variabilité de structure génétique observée. De plus, richesse spécifique et diversité alpha de ces deux communautés étaient positivement corrélées au gradient de contamination des sédiments de la rade. La multi-contamination chimique de ce système représenterait alors une perturbation favorisant la biodiversité des communautés microbiennes benthiques au détriment des autres communautés.

Références bibliographiques :

1. Tessier E., Garnier C., Mullot J.-U., Lenoble V., Arnaud M., Raynaud M. and Mounier S. (2011). Study of the spatial and historical distribution of sediment inorganic contamination in the Toulon bay (France). *Marine Pollution Bulletin* 62:2075-2086
2. Joynt J., Bischoff M., Turco R., Konopka A. and Nakatsu C.H. (2006). Microbial community analysis of soils contaminated with lead, chromium and petroleum hydrocarbons. *Microbial Ecology* 51:209-219.
3. Besaury L., Ghiglione J.-F. and Quillet L. (2014). Abundance, activity and diversity of archaeal and bacterial communities in both uncontaminated and highly copper-contaminated marine sediments. *Marine Biotechnology* 16: 230-242.

APPORTS DU SEQUENÇAGE HAUT-DEBIT (NGS) DANS L'ETUDE DE L'IMPACT DE METAUX LOURDS EN MELANGE DANS LES SOLS A MICRO-ECHELLE

LEHEMBRE Frédéric¹, NAVEL Aline¹, LEJON David, VINCE Erwann¹, LOBREAU Stéphane^{1*}, SPADINI Lorenzo¹, et Jean M. F. MARTINS¹

(1) *Laboratoire d'Etudes des Transferts en Hydrologie et Environnement, LTHE, UMR 5564, CNRS-INSU/Univ. Grenoble I/INPG/IRD. jean.martins@ujf-grenoble.fr*

* Nouvelle adresse : *Laboratoire d'ECologie Alpine UMR 5553 CNRS/Univ.Grenoble*

Le fonctionnement biologique des sols naturels peut être affecté par des pollutions aux métaux lourds. Leur structuration en agrégats rend extrêmement complexe l'évaluation de l'impact spatialisé de métaux lourds, en particulier en conditions de mélange. En effet, la distribution spatiale non homogène des métaux lourds et des microorganismes entre les différents micro-compartiments des sols suppose un impact écotoxicologique variable des métaux. Afin de mieux comprendre l'impact d'une pollution multi-métallique sur la structure des communautés microbiennes à micro-échelle, nous avons développé une approche originale de micro-biogéographie basée sur l'utilisation des nouvelles technologies de séquençage (NGS) corrélée aux données géochimiques de distribution et de spéciation chimique de 3 métaux lourds (Cu, Cr et Cd) ajoutés seuls et en mélange dans un sol de vigne obtenu par une méthode de fractionnement physique non destructurant. Les premiers résultats révèlent un impact augmenté du chrome et du mélange de métaux sur la structure des populations bactériennes à l'échelle des fractions granulométriques. La forte teneur en métaux et la faible biodiversité mesurée dans les fractions fines (< 20 µm) suggèrent une exposition augmentée des bactéries de cet habitat aux stress physico-chimiques.

Références bibliographiques :

- Navel A and JMF Martins. (2014). Effect of long term organic amendment and vegetalization of vineyard soils on the microscale biogeochemistry and distribution of copper. *Science of the Total Environment*, 466:681-689
- Lehembre F, Doillon D, David E, et al. (2013). Soil metatranscriptomics for mining eukaryotic heavy metal resistance genes. *Environmental Microbiology*, 15: 2829–2840.
- Lejon DPH, Martins JMF, Lévêque J, Spadini L, Pascault N, Landry D, Chaussod R, Ranjard L (2008). Copper dynamics and impact on microbial communities in vineyard soils of variable organic status. *Environ. Sci. Technol.* 42(8): 2819-2825. 2008.

VARIABILITE SAISONNIERE DE LA TOLERANCE AUX METAUX DE BIOFILMS DE RIVIERE PRELEVES EN SEINE DE L'AMONT À L'AVAL DE PARIS

AUTRET Armelle¹², DUFOUR Marine¹, FECHNER Lise¹³

(1) Irstea UR HBAN, 1 rue Pierre-Gilles de Gennes, CS 10030, 92761 Antony Cedex (2) CNRS UMR 6143 M2C, Université Rouen/Caen, IRESE B, place Emile Blondel 76821 Mont Saint Aignan (3) AgroParisTech, F-75005 Paris, France.

Cette étude a pour objectif d'étudier la répétabilité et la variabilité saisonnière de la réponse biologique de biofilms de rivière prélevés dans un gradient de contamination urbaine multi-métallique. Pour ce faire, des biofilms ont été prélevés sur supports artificiels immergés dans la Seine au niveau de trois sites de l'amont (Marnay) à l'aval (Bougival et Triel) de Paris en septembre 2011 puis en mars, juillet et décembre 2012 après 3 à 5 semaines de colonisation *in situ*. La tolérance au Cu, Ni, Pb et Zn des communautés hétérotrophes a été évaluée par une approche de type PICT (*Pollution-Induced Community Tolerance*) avec un test de toxicité fondé sur la mesure de l'activité β -glucosidase. La diversité microbienne des échantillons prélevés en juillet et en décembre 2012 a également été évaluée par séquençage haut-débit des ADNr 16S.

Comme nous l'avons observé lors d'études préliminaires en Seine, la tolérance aux métaux des communautés hétérotrophes augmente en moyenne sur les quatre campagnes de l'amont à l'aval de Paris. Par ailleurs, les niveaux de tolérance sont variables d'une saison à l'autre pour un même métal. Ainsi, la saison de prélèvement apparaît comme un paramètre déterminant pour la mesure de tolérance. Enfin, dans le cas du Cu les niveaux de tolérance sont plus élevés en aval de Paris lors des campagnes réalisées par temps chaud (septembre et juillet) avec un gradient de tolérance amont/aval net par comparaison aux campagnes réalisées par temps froid (mars et décembre). Cette tendance saisonnière n'est pas observée pour les autres métaux testés.

Références bibliographiques :

- Fechner LC, Versace . Gourlay-Francé C, Tusseau-Vuillemin M-H, (2012) Adaptation of copper community tolerance levels after biofilm transplantation in an urban river. *Aquatic Toxicology*, 106 – 107: 32– 41.
- Fechner LC, Gourlay-Francé C, Bourgeault A, Tusseau-Vuillemin M-H, (2012) Diffuse urban pollution increases metal tolerance of natural heterotrophic biofilms. *Environmental Pollution*, 162:311-318.
- Fechner LC, Gourlay-Francé C, Tusseau-Vuillemin M-H (2014) Linking community tolerance and structure with low metallic contamination: A field study on 13 biofilms sampled across the Seine river basin. *Water Research*, 51: 152-162.

IMPACT DU CUIVRE SUR LES MICROORGANISMES PRÉSENTS DANS DES SÉDIMENTS CONTAMINÉS CHILIENS

QUILLET Laurent (1), BESAURY Ludovic (2), OUDDANE Baghdad (3), BODILIS Josselin (1), BUQUET Sylvaine (1), MESNAGE Valérie (2), DE LA IGLESIA Rodrigo (4), MARTY Florence (5), MUYZER Gerard (5), GHIGLIONE Jean-François (6)

(1) *LMSM, Laboratoire de Microbiologie Signaux et Microenvironnement, EA 4312, Université de Rouen, 76821 Mont Saint Aignan Cedex*, (2) *Faculté des Sciences, Université de Rouen, CNRS UMR 6143-M2C, Groupe de Microbiologie, Place Emile Blondel, 76821 Mont Saint Aignan Cedex*, (3) *Equipe Chimie Analytique et Marine, UMR 8217, Université Lille 1, 59655 Villeneuve d'Ascq Cedex*, (4) *Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Alameda 340, Santiago, Chile*, (5) *University of Technology of Delft, Division Environmental Biotechnology, Department of Biotechnology, Julianalaan 67, Delft 2628 BC, The Netherlands*, (6) *UMR CNRS 7621, Laboratoire d'Océanographie Microbienne LOMIC, Banyuls-sur-Mer, France*

En utilisant des techniques moléculaires et cultivables, nous avons étudié l'impact du cuivre sur les communautés microbiennes présentes dans des sédiments chiliens contaminés.

Nous avons isolé des bactéries aérobies et anaérobies, et les avons comparé aux séquences correspondant aux ARNr 16S amplifiés par PCR à partir de l'ADN total extrait des sédiments. Une faible corrélation a été observée entre les souches bactériennes isolées et les séquences des ARNr 16S amplifiés. Les bactéries cultivables isolées dans des conditions oxygènes appartiennent surtout au genre *Bacillus*; celles isolées dans des conditions anoxiques appartiennent majoritairement aux genres *Desulfovibrio*, *Sphingomonas*, et *Virgibacillus*.

En comparant un des sites chiliens contaminés avec un site référence non contaminé, nous avons étudié l'abondance et la diversité des gènes de résistance au cuivre *cusA* et *copA*. Dans le sédiment contaminé, le nombre de gènes *copA* et *cusA* par bactérie est supérieur, et le gène *copA* est plus abondant que le gène *cusA*. Une étude phylogénétique de ces gènes montre un impact du cuivre sur la structure génétique de ces gènes. La présence des gènes de résistance *copA* et *cusA* a été testée pour toutes les souches bactériennes isolées précédemment; et seul le gène *copA* a été détecté dans certains isolats. Nos résultats laissent suggérer, au niveau des bactéries présentes dans ces sédiments contaminés, la présence de mécanismes de transfert horizontaux de gènes de résistance, mais également l'existence probable d'autres mécanismes de résistance au cuivre.

Mots-clés : sédiments marins contaminés, gènes de résistance au cuivre, bactéries cultivables

Références bibliographiques :

Besaury L., Marty F., Buquet S., Mesnage V., Muyzer G., Quillet L. Culture-dependent and independent studies of microbial diversity in highly copper-contaminated Chilean marine sediments. *Microbial Ecology* (2013) 65 : 311-324. (IF 2011: 2.91).

Besaury L., Bodilis J., Delgas F., Andrade S., De La Iglesia R, Ouddane B., Quillet L. Abundance and diversity of copper resistance genes *cusA* and *copA* in microbial communities in relation to the impact of copper on Chilean marine sediments. *Marine Pollution Bulletin* (2013) 67, 16–25.

Besaury L., Ghiglione J-F., Quillet L. Abundance, activity and diversity of archaeal and bacterial communities in both uncontaminated and highly copper-contaminated marine sediments. *Marine Biotechnology* (IF 2011: 3.43).

COLONISATION PAR DES ORGANISMES PHOTOTROPHES DE DEUX SOLS PÉDOLOGIQUEMENT CONTRASTÉS TRAITÉS AVEC DES MÉLANGES RÉALISTES D'HERBICIDES.

JOLY Pierre¹, MISSON Benjamin², PERRIÈRE Fanny¹, BONNEMOY Frédérique¹, JOLY Muriel³, DONNADIEU-BERNARD Florence¹, AGUÈR Jean-Pierre¹, BOHATIER Jacques¹, MALLET Clarisse¹

(1) Laboratoire Microorganismes : Génome et Environnement (LMGE) UMR6023, Université Blaise Pascal, 63171 Aubière cedex, France (2) PROTEE, EA 3819, Université de Toulon, 83957 La Garde, France (3) Institut de Chimie de Clermont Ferrand (ICCF) UMR6504, Université Blaise Pascal, 63171 Aubière cedex, France

Dans un contexte de changement des pratiques agricoles, des molécules plus spécifiques dans leurs cibles d'action sont appliquées à faibles doses et en mélanges. Cependant, les pesticides restent une menace majeure pour la biodiversité et la durabilité des usages des sols. Les microorganismes phototrophes, majoritairement représentés par des cyanobactéries et microalgues, seraient, du fait de leurs caractéristiques physiologiques, plus directement impactés et plus sensibles aux herbicides que les bactéries et champignons qui sont le plus souvent étudiés. Néanmoins, les connaissances disponibles sur la dynamique de la biodiversité des communautés microbiennes phototrophes sont limitées dans les sols agricoles.

C'est donc dans ce contexte qu'une étude en microcosmes a été réalisée sur 2 types de sols (vertisol et luvisol) afin d'évaluer les impacts écotoxicologiques sur les communautés phototrophes de mélanges réalistes de 3 molécules d'herbicides formulées (S-métolachlore/Dual Gold Safeneur®, mésotrione/Callisto® et nicosulfuron/Milagro®). Les sols présentent des différences de colonisation, avec des Diatomées et Chlorophycées dominantes sur le vertisol et des Cyanobactéries ainsi que des Bryophytes sur le luvisol. Les résultats mettent en évidence l'effet délétère majeur du Dual Gold Safeneur® sur la biomasse et la composition des communautés phototrophes des 2 sols, sans une totale résilience au bout de trois mois. Cependant, les mélanges de Callisto® et Milagro® ne semblent pas avoir d'effet significatif sur ces organismes. Cette étude remet donc en question l'évaluation du risque environnemental du Dual Gold Safeneur® et met en évidence l'intérêt d'étudier les microorganismes phototrophes des sols comme indicateurs de contaminations herbicides.

Références bibliographiques :

Joly P, Bonnemoy F, Charvy J-C, Bohatier J, Mallet C (2014). Toxicity assessment of the maize herbicides S-metolachlor, benoxacor, mesotrione and nicosulfuron, and their corresponding commercial formulations, alone and in mixtures, using the Microtox® test. *Chemosphere*. In press

Crouzet O, Wiszniowski J, Donnadiou F, Bonnemoy F, Bohatier J, Mallet C (2013). Dose-Dependent Effects of the Herbicide Mesotrione on Soil Cyanobacterial Communities. *Arch Environ Contam Toxicol*. 64: 23-31.

Joly P, Besse-Hoggan P, Bonnemoy F, Batisson I, Bohatier J, Mallet C (2012). Impact of maize herbicides cocktail Callisto and Dual Gold on soil microbial communities. *ISRN Ecology*. ID 329898, 9 pages doi:10.5402/2012/329898.

EXPOSITION DE BIOFILMS PHOTOTROPHES A L'ALACHLORE : REPONSE DES COMMUNAUTES MICROBIENNES vs MATURITE DU BIOFILM

PAULE Armelle¹, LAMY Alexandre¹, ROUBEIX Vincent², LAUGA Béatrice³, DELMAS François², DURAN Robert³, ROLS Jean-Luc¹

(1) *Laboratoire Ecologie Fonctionnelle et Environnement (EcoLab) UMR 5245, Université Paul Sabatier, F-31062 Toulouse Cedex 9, (2) UR Ecosystèmes Aquatiques et Changements Globaux (EABX), IRSTEA, F-33612 Cestas, (3) Institut Pluridisciplinaire de Recherche Environnement et Matériaux (IPREM) UMR 5254, Université Pau et Pays de l'Adour, F-64013 Pau.*

Un des enjeux environnementaux majeurs est de définir si l'érosion de la biodiversité d'un écosystème est susceptible de le rendre moins efficace sur le plan fonctionnel. Au sein des écosystèmes aquatiques, les biofilms phototrophes peuvent jouer un rôle fonctionnel clé (cycles biogéochimiques, réseau trophique). Les premiers stades de développement du biofilm sont principalement sous l'influence des facteurs abiotiques (physico-chimie de l'eau, présence de polluants toxiques), alors que les interactions fonctionnelles d'ordre biotique (compétition pour les ressources, niches écologiques, prédation) prévalent dans un biofilm mature. Les approches écotoxicologiques utilisant les biofilms phototrophes n'intègrent que rarement cette propriété d'agrégat dynamique. Nous proposons d'analyser l'influence relative d'un herbicide (alachlore) et des facteurs biotiques et abiotiques sur les communautés microbiennes par une approche multi-métrique (structurelle et fonctionnelle). Des biofilms phototrophes, de même maturité et d'origine naturelle (cours d'eau de bassins versants agricole ou forestier) ou de maturité différente (biofilms à diversité algale réduite, produits en bioréacteur annulaire rotatif), sont exposés à l'alachlore (10 à 30 µg/L durant 2 à 3 semaines). Les effets de l'alachlore sur les descripteurs de biomasse (chloro *a* et matière sèche) sont concentration-dépendants. Les communautés de diatomées sont dominées par des espèces colonisatrices et/ou mobiles, connues pour être tolérantes aux herbicides. Les diversités structurelle (T-RFLP et DGGE) et fonctionnelle (sources de carbone Biolog) des communautés bactériennes suivent des trajectoires de succession écologique davantage impactées par la durée d'incubation en microcosme que par l'alachlore. Il est indispensable d'intégrer la dynamique du biofilm phototrophe lors de l'évaluation de l'effet d'un pesticide pour éviter les facteurs de confusion.

Références bibliographiques :

- Paule A, Lyautey E, Garabetian F, Rols JL (2009) Autogenic versus environmental control during development of river biofilm. *International Journal of Limnology*, 45 : 1-10.
- Paule A, Lauga B, Ten-Hage L, Morchain J, Duran R, Paul E, Rols JL (2011) A photosynthetic rotating annular bioreactor (Taylor-Couette type flow) for phototrophic biofilm cultures. *Water Research*, 45 (18): 6107-6118.
- Paule A, Roubex V, Lauga B, Duran R, Paul E, Rols JL (2013) Changes in tolerance to herbicide toxicity throughout development stages of phototrophic biofilms cultivated in rotating annular bioreactor. *Aquatic Toxicology*, 144-145: 310-321.

INFLUENCE DE LA CONTAMINATION CHIMIQUE ET DES APPORTS TERRIGÈNES DE LA CHARENTE SUR LES COMMUNAUTÉS MICROBIENNES

Sabine Stachowski-Haberkorn¹, Stéphane Guesdon², Christian Béchemin², Larissa Haugarreau¹, Dominique Ménard¹, Julien Rouxel¹, Alexandra Duchemin¹, Nathalie Coquillé¹, Célia Khélifi¹, Morgane Hubert¹, Céline Vérité², Gabriel Charpentier², Jean-Luc Seugnet², James Grizon², Jean-Michel Chabirand², Christophe Brach-Papa³, Jean-François Chiffolleau³, Dominique Auger³, Emmanuelle Rozuel³, Christophe Lambert⁴, Philippe Soudant⁴, Fabienne Le Grand⁴, Louis Quiniou⁴, Beatriz Beker⁴, Alain Jadas-Hécart⁵, Pierre-Yves Communal^{5,6}

¹ Laboratoire d'écotoxicologie, Ifremer, rue de l'île d'Yeu, BP 21105, 44311 Nantes cedex 0.

² Laboratoire Environnement Ressource des Pertuis Charentais, Ifremer, BP7, 17137 L'Houmeau

³ Laboratoire de Biogéochimie des Contaminants Métalliques, Ifremer, rue de l'île d'Yeu, BP 21105, 44311 Nantes cedex 03

⁴ Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin (LEMAR), UMR6539 Institut Universitaire Européen de la Mer (IUEM), Université de Bretagne Occidentale (UBO) Place Nicolas Copernic, 29280 Plouzané, FRANCE.

⁵ Université d'Angers, LETG-Angers LEESA, UMR CNRS 6554, UFR Sciences 2 Bd Lavoisier, 49045 Angers Cedex1

⁶ GIRPA, 9 avenue du Bois l'Abbé, CS 30045, 49071 Beaucouzé ; LETG-Angers LEESA.

Le bassin-versant de la Charente est caractérisé par une importante activité agricole, source potentielle de contamination des écosystèmes aquatiques via notamment les phénomènes de ruissellement et de lessivage des sols. Les contaminants présents dans les eaux superficielles peuvent ensuite se retrouver au niveau du bassin de Marennes-Oléron, réceptacle des eaux de la Charente. En zones côtières, les apports continentaux véhiculés par les fleuves enrichissent le milieu : ces zones jouent un rôle important dans la production biologique marine. Les concentrations élevées en sels nutritifs favorisent la production microbienne, hétérotrophe ainsi que phytoplanctonique : elles permettent ainsi le développement de réseaux trophiques riches et complexes.

Dans le cadre du projet TOPHYPAC (TOLérance des communautés PHYtoplanctoniques aux PHYtosanitaires dans le PANache de la Charente) financé par le programme Pesticides du Ministère de l'Écologie, du Développement Durable et de l'Énergie, l'estuaire de la Charente a fait l'objet d'un suivi environnemental (physico-chimie, communautés phytoplanctoniques et bactéries hétérotrophes) bimensuel en quatre points tout au long de trois années. Les données collectées sont analysées afin d'étudier l'influence des paramètres physico-chimiques (saisons, hydrologie, apports terrigènes, contamination chimique) sur la dynamique et l'évolution des communautés microbiennes échantillonnées de façon à : i) en dégager les variables forçantes les plus significatives ; ii) déterminer l'influence éventuelle de la contamination chimique sur ces communautés. Afin de mieux comprendre les effets éventuels d'expositions répétées à la contamination chimique sur les communautés, le concept du PICT a été appliqué en laboratoire : les communautés issues de trois stations ont été exposées à un mélange de pesticides retrouvés dans le milieu, au cours du printemps et de l'été. Quelques résultats seront présentés.

Références bibliographiques:

- de la Broise, D., **Stachowski-Haberkorn, S.**, 2012. Evaluation of the partial renewal of in situ phytoplankton microcosms and application to the impact assessment of bentazon and dimethenamid. *Marine Pollution Bulletin* 64, 2480-2488.
- Weissbach Astrid, **Bechemin Christian**, Genauzeau Sylvie, Rudstroem Maria, Legrand Catherine (2012). Impact of Alexandrium tamarense allelochemicals on DOM dynamics in an estuarine microbial community. *Harmful Algae*, 13, 58-64
- Auby Isabelle, D'Amico Florence, Barbier Claire, Maurer Daniele, Gouriou Laure, Plus Martin, Rigouin Loic, Rumebe Myriam, Tournaire Marie-Pierre, Trut Gilles, Oger-Jeanneret Helene, Derrien Annick, Genauzeau Sylvie, Schmitt Anne, **Charpentier Gabriel, Seugnet Jean-Luc, Grizon James**, Geairon Philippe, Guilpain Patrice, Thomas Gerard, **Guesdon Stéphane, Chabirand Jean-Michel**, Soudant Dominique, Lamoureux Alice, Llevot Gerard, Beaugrand Philippe, Michel Valerie, Petrau Christian, Bariou Jean, Landier Pascal, Miguel Valerie (2013). Suivi « hydrologie » et « phytoplancton » des masses d'eau du bassin hydrographique Adour-Garonne en 2007-2012. <http://archimer.ifremer.fr/doc/00152/26281/>

ANALYSE DES COMMUNAUTÉS BACTÉRIENNES DE ZONES HUMIDES ARTIFICIELLES TRAITANT LE S-MÉTOLACHLORE PAR T-RFLP ET PYROSÉQUENÇAGE

ELSAYED Omnia F.^{1,2}, MAILLARD Elodie¹, VUILLEUMIER Stéphane^{1,2}, IMFELD Gwenaël¹

(1) *Laboratoire d'Hydrologie et de Géochimie de Strasbourg (LHyGeS), UMR 7517 Université de Strasbourg/ENGEES - CNRS, France* (2) *Génétique Moléculaire, Génomique, Microbiologie (GMGM), UMR 7156 Université de Strasbourg - CNRS, France*

Les communautés bactériennes sont des acteurs-clés des fonctions écosystémiques des zones humides, mais la connaissance de leur composition et de leur réponse aux contaminations par les pesticides est encore préliminaire. Dans cette étude, nous avons caractérisé, par polymorphisme de longueur des fragments de restriction (T-RFLP) et pyroséquençage 454, l'évolution au cours du temps de la structure des communautés bactériennes de deux zones humides artificielles recevant de l'eau contaminée par le S-métolachlore sous des régimes hydrauliques différents (flux continu et batch). La dégradation du S-métolachlore au cours de l'expérience a été démontrée par analyse GC-MS, et par détection de ses produits de dégradation ESA et OXA par LC-MS.

Des différences modestes mais significatives (ANOSIM $R = 0.32$, $p = 0.008$) ont été observées dans les communautés bactériennes de l'eau interstitielle des deux systèmes, qui présentaient des différences de conditions rédox importantes. L'évolution temporelle de la structure des communautés a été plus abrupte dans le système batch que dans le système en flux continu. Des corrélations entre la structure des communautés bactériennes et les concentrations de S-métolachlore, de nitrate et de carbone inorganique total ont également été mises en évidence.

Les résultats obtenus montrent que l'analyse de communautés bactériennes par biologie moléculaire représente un outil de bioindication potentiel pour évaluer l'effet des pesticides sur les écosystèmes de zones humides, et pointent également l'importance du choix du régime hydraulique et des conditions physico-chimiques d'opération de zones humides artificielles conçues pour la biodégradation de pesticides.

Références bibliographiques :

- Elsayed O, Maillard E, Vuilleumier S, Nijenhuis I, Richnow HH, Imfeld G (2014) Using compound specific isotope analysis to assess the degradation of chloroacetanilide herbicides in lab-scale wetlands. *Chemosphere* 99:89-95.
- Imfeld G, Vuilleumier S (2012) Measuring the effects of pesticides on bacterial communities in soil: a critical review. *Eur. J. Soil Biol.* 49:22-30.
- Imfeld G, Bringel F, Vuilleumier S (2011). Bacterial tolerance in contaminated soils: potential of the PICT approach in microbial ecology. In *Tolerance to Environmental Contaminants* (Amiard-Triquet C, Rainbow PS, Roméo M, editors), CRC Press, Boca Raton, 335-364.

CONTAMINATION DES EAUX DE RIVIÈRES DES CARAÏBES PAR LA CHLORDÉCONE (INSECTICIDE ORGANOCHLORÉ): RÉPONSE DES COMMUNAUTÉS MICROBIENNES ÉPILITHIQUES

LAUGA Béatrice¹, MONTI Dominique³, CARBON Anne¹, RISSER Théo¹, HUBAS Cédric², KARAMA Solange¹, BUDZINSKI Hélène⁴, DURAN Robert¹

(1) IPREM, EEM, UMR 5254, Université de Pau & Pays de l'Adour, IBEAS, F-64013 Pau, France (2) UMR BOREA 7208 CNRS/MNH/UPMC/IRD, Muséum National d'Histoire Naturelle, Bâtiment des Arthropodes, CP53, 61 rue Buffon, 75231 Paris Cedex 5, France (3) Université des Antilles et de la Guyane, EA926 DYNECAR, Laboratoire de Biologie Marine, BP 250, 97157 Pointe-à-Pitre, Guadeloupe, France (4) CNRS UMR 5805 EPOC, Université Bordeaux 1, F-33400 Talence, France

Utilisée jusqu'en 1993 pour traiter les bananiers contre le charançon *Cosmopolites sordidus* la chlordécone, insecticide organochloré élevé au rang de POP (Polluants Organiques Persistants), contamine sols, sources, eau potable et rivières des Antilles. Cette contamination quasi-généralisée s'explique par les propriétés de cette molécule qui montre une forte rémanence mais est aussi récalcitrante à la dégradation. Concentrées sur une problématique sols, aucune étude d'envergure visant la composante microbienne et focalisant la contamination dans les rivières n'a été développée à ce jour. Les biofilms épilithiques qui sont en interaction permanente avec le milieu aquatique dans les rivières constituent un modèle intéressant pour aborder de nombreuses questions liées à la fois à l'écologie de ces écosystèmes insulaires tropicaux, à leur rôle potentiel de sentinelles capables de refléter la qualité du milieu et à leur capacité d'épuration. De plus l'impact de la molécule sur cette composante des écosystèmes lotiques n'a jamais été évalué. Afin d'étudier la réponse de la communauté microbienne (bactéries, archées et microeucaryotes) des biofilms à la contamination naturelle de ces milieux nous avons suivi la diversité et la structure de chacune des composantes par empreinte moléculaire (T-RFLP) et évalué le niveau de contamination par des capteurs passifs de six rivières de Basse-Terre en Guadeloupe. Nos résultats indiquent clairement que les communautés répondent au gradient de contamination de manière spécifique. Ainsi les communautés des sites les plus contaminés diffèrent des sites peu ou pas contaminés. Ceci suggère que la chlordécone impacte les biofilms et donc potentiellement le fonctionnement de cet écosystème singulier.

Références bibliographiques :

- Lauga B, Girardin N, Karama S, Le Ménach K, Budzinski H, and Duran R (2013) Removal of alachlor in anoxic soil slurries and related alteration of the active communities. *Environmental Science and Pollution Research*, 20:1089-1105.
- Paule A, Roubex V, Lauga B, Duran R, Delmas F, Paul E, and Rols J L (2013) Changes in tolerance to herbicide toxicity throughout development stages of phototrophic biofilms. *Aquatic Toxicology*, 144-145: 310-321.
- Vercraene-Eairmal M, Lauga B, Saint Laurent S, Mazzella N, Boutry S, Simon M, Karama S, Delmas F, and Duran R (2010) Diuron biotransformation and its effects on biofilm bacterial community structure. *Chemosphere*, 81: 837-843.

LES BIOCIDES DES REVETEMENTS ANTIFOULING STRUCTURENT-ILS LES COMMUNAUTES DES BIOFILMS LES COLONISANT : ETUDE AUX DIFFERENTES SAISONS EN MEDITERRANÉE ET DANS L'OCEAN ATLANTIQUE

BRIAND Jean-François¹, GREGORI G rald², BOUCHEZ Agn s³, R HEL Karine⁴, GARNIER C dric⁵, URVOIS F lix¹, BARANI Aude², LE BERRE Brigitte³, LE POUPON Christophe⁵, DEBROAS Didier⁶ et BRESSY Christine¹

¹MAPIEM-EA 4323, Université de Toulon, La Garde, ²PRECYM UMR 7294 MIO- Université Aix-Marseille, ³Universit  de Bretagne-Sud, LBCM-EA 3883, IUEM, 56100, Lorient, ⁴INRA-UMR CARTEL-RITOXE, Thonon-Les-Bains, ⁵PROTEE-EA 3819, Université de Toulon, La Garde, ⁶UMR 6023 LMGE, Université Clermont

Tout substrat immergé en milieu aquatique est rapidement colonisé par de nombreux organismes. Ce processus (biofouling) a des conséquences économiques préjudiciables pour les structures artificielles en milieu marin comme les coques de navires. Les revêtements antifouling (AF) commerciaux contiennent plusieurs biocides dont l'action individuelle sur les microorganismes n'est pas décrite.

L'objectif de cette étude est de déterminer (i) la dynamique spatio-temporelle de la structure des communautés (cytométrie en flux, DGGE, pyros quencage et microscopie) constituant les biofilms dans les rades de Toulon (Méditerranée) et Lorient (Atlantique)   chaque saison sur un revêtement de référence [R], (ii) l'effet de 3 biocides (Pyrithione de cuivre [C], de zinc [Z] et Zineb® [I]), incorporés dans des revêtements AF, sur cette dynamique, en lien avec la qualité de l'eau (température, salinité, O₂, pH, carbone organique/inorganique dissous, métaux traces).

Les données de cytométrie en flux et de pyros quencage indiquent que les biofilms sur C et Z ont une abondance et une diversité similaires, significativement plus faibles que sur R, contrairement   I qui semble avoir peu d'effet. Les analyses statistiques montrent aussi que l'effet biocide est supérieur   l'effet site (ordre inversé pour les diatomées), alors que la saison influe peu. L'effet site se manifeste notamment par des abondances plus élevées en Atlantique (niveau trophique et variation de salinité plus élevées et liés   des apports d'eau douce). Les γ et α prot obacteria sont les taxa dominants, suivi des Bacteroidetes, principalement Sphingobacteria. Leur ratio varie entre 1 et 2 pour R, alors que pour C et Z, il diminue   Toulon mais augmente   Lorient.

Références bibliographiques :

Briand JF, Djeridi I, Jamet D, Coupé S, Bressy C, Molmeret M, Le Berre B, Rimet F, Bouchez A & Blache Y (2012) Pioneer marine biofilms on antifouling paints immersed in two contrasted French Mediterranean coast sites. *Biofouling*, 28:453-463.

Camps M, Barani A, Gregori G, Bouchez A, Le Berre B, Bressy C, Blache Y & Briand JF Antifouling coatings influence both abundance and community structure of their colonizing biofilms : a case study in the North-Western Mediterranean Sea. *Soumis   Appl. Environ. Microbiol.*

Salta M, Wharton J, Blache Y, Stokes K & Briand JF (2013) Marine biofilms on man-made surfaces: structure and dynamics. *Env. Microbiol.*, 15:2879-2893.

INFLUENCE OF BENTHIC SUBSTRATUM TYPE ON TEBUCONAZOLE EFFECTS IN STREAM MICROBIAL COMMUNITIES

DONNADIEU Florence¹, BESSE-HOGAN Pascale², FORESTIER Chrsitiane¹, ARTIGAS Joan¹

(1) Laboratoire Microorganismes : Génome et Environnement (CNRS-UMR 6023), Université Blaise Pascal-Université d'Auvergne, 63171 Aubière, France. (2) Institut de Chimie de Clermont-Ferrand (CNRS-UMR 6296), Université blaise Pascal, 63171 Aubière, France.

Fungicides reaching stream ecosystems can show different capacities to adsorb onto benthic substrata, and thus, cause contrasting effects in their associated microbial communities. This microcosm study aims to evaluate the potential of tebuconazole (TBZ) adsorption onto submerged leaves (L) and sand (S) substrata and identify its effects on the structure and functioning of microbial communities associated. Results showed that TBZ significantly reduced fungal biomass (17-20 %) but increased the bacterial one (34-50 %) in L and S substrata incubated alone. Reduction of fungi agreed with the mode of action of TBZ (preventing ergosterol biosynthesis), whereas stimulation of bacteria was probably related to the reduction of the protozoa community by the fungicide (grazing reduction). Mixing L+S substrata in indoor channels tended to attenuate TBZ effects in microbial communities, and this was explained by the greater substratum surface area available for TBZ adsorption. However, substrata mixture did not only dilute but modified TBZ effects in S communities (increase of fungal biomass and hyphomycete sporulation rates). This result suggests that S substrata can eventually represent a suitable microenvironment for fungal development during TBZ contamination episodes in streams. The present study shows the relevance of benthic substrata heterogeneity in determining the fate and effects of TBZ in agricultural streams, but also highlights the contrasting response between fungi and bacteria to cope with the fungicide.

Références bibliographiques :

- Artigas, J., Pascual, N., Bouchez, A., Chastain, J. et al. (2014) Comparative sensitivity to the fungicide tebuconazole of biofilm and plankton microbial communities in freshwater ecosystems. *Science of the Total Environment*, 468-469: 326-336.
- Artigas, J., Majerholc, J., Margoum, C., Volat, B., et al. (2012) Effects of the fungicide tebuconazole on microbial capacities for litter breakdown in streams. *Aquatic Toxicology*, 122:197-205.
- Lambert, A.S., Morin, S., Artigas, J., Volat, B., Coquery, M., Neyra, M. and Pesce, S. (2012) Structural and functional recovery of biofilms after a decrease in copper exposure: influence of the presence of pristine communities. *Aquatic Toxicology*, 109: 118-126.

IMPACT DES CONTAMINANTS CHIMIQUES ET ORGANIQUES SUR LA DIVERSITÉ DES COMMUNAUTÉS MICROBIENNES D'UNE CAROTTE SÉDIMENTAIRE D'UN ESTUAIRE ANTHROPISE

Thierry Berthe¹, Assia Kaci-Benaicha¹, Dominique Boust², Patrick Lesueur¹, Céline Roose-Amsaleg³, Sébastien Cécillon⁴, Fabienne Petit¹

1. CNRS UMR M₂C, Université Caen-Rouen, Mont Saint Aignan, France.
2. IRSN, Laboratoire de Radioécologie, Cherbourg-Octeville, France.
3. UMR METIS, Université Paris VI, Paris, France.
4. UMR CNRS 5005, Ecole Centrale de Lyon, Lyon, France.

L'estuaire de la seine est un des estuaires européens les plus contaminés par les métaux traces (notamment cadmium), les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et les polychlorobiphényles (PCB). Dans cet environnement, les vasières estuariennes sont des zones de dépôt des particules fines et des contaminants chimiques associés. Une étude de la diversité des communautés microbiennes a été effectuée le long d'une carotte sédimentaire, de 442 cm de long correspondant à une période de 45 années, au regard des concentrations en métaux traces, HAP et PCB qui augmentent en fonction de la profondeur (maximales dans les années 1970).

L'empreinte moléculaire des communautés microbiennes réalisée par DGGE montre une modification de la structure des communautés le long de la carotte, qui est corrélée avec l'âge des sédiments, les concentrations en métaux traces et en HAP. La caractérisation de la diversité réalisée avec des puces à ADN (Phylochips) indique que les communautés bactériennes totales et métaboliquement actives sont dominées par des Protéobactéries, Firmicutes et Actinobactéries, avec des différences au niveau des classes. Une analyse en co-inertie montre une correspondance entre la présence de phylums spécifiques et la contamination des sédiments en HAP et zinc. Alors que le gène *czcA* (système Heavy Metal Efflux RND qui confère la résistance au zinc, cadmium et cobalt) est détecté le long de la carotte, la diversité des séquences est moins importante dans les sédiments les plus anciens suggérant une sélection des genres bactériens qui peut être consécutive à la contamination chimique et/ou aux processus de diagénèse précoce.

STRUCTURE ET ÉVOLUTION DES COMMUNAUTÉS MICROBIENNES (BACTÉRIES ET ARCHÉES) EN RELATION AVEC LA QUALITÉ DES EAUX DES ECOSYSTEMES MÉDITERRANÉENS

PALACIOS Carmen^{1,2}, REOYO-PRATS Brice^{1,2}, SANCHEZ GARCIA Alvaro^{1,2}, AUBERT Dominique^{1,2}, MENNITI Christophe^{1,2}, DELSAUT Nicole^{2,1}, KUNESCH Stéphane^{2,1}, LUDWIG Wolfgang^{1,2}, SOTIN Christine^{1,2}, SOLA Jennifer^{1,2}, CONAN Pascal^{3,4}, GHIGLIONE Jean-François^{4,3}, PUJO-PAY Mireille^{4,3}, VERNEAU Olivier^{1,2}.

(1) Univ. de Perpignan Via Domitia, Centre de Formation et de Recherche sur les Environnements Méditerranéens (CEFREM), UMR5110, F-66860, Perpignan, France. (2) CNRS, Centre de Formation et de Recherche sur les Environnements Méditerranéens (CEFREM), UMR 5110, F-66860, Perpignan, France. (3) Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, UMR7621, Laboratoire d'Océanographie Microbienne, Observatoire Océanologique, F-66651 Banyuls sur Mer, France (4) Laboratoire d'Océanographie Microbienne (LOMIC) UMR7621, Observatoire Océanologique de Banyuls, 66650 Banyuls/mer, France.

L'état de santé de nos cours d'eau est une préoccupation majeure au centre des directives européennes sur le maintien de la qualité des eaux. En régime méditerranéen, les fleuves sont soumis à d'importantes périodes d'assèchement, mais également à de rares événements pluvieux de forte intensité qui conduisent alors à accentuer les phénomènes de pollutions multiples. Le diagnostic de la qualité des eaux en Méditerranée doit ainsi passer par la détermination lors de ces phases extrêmes des paramètres physico-chimiques, notamment la concentration en sels nutritifs, éléments trace métalliques et pesticides, et aussi par la caractérisation des conséquences de ces perturbations via l'utilisation d'indicateurs biologiques (bio-essais, bio-marqueurs) qui possèdent un effet mémoire des pollutions passées et actuelles. Notre étude multidisciplinaire est axée sur le fleuve principal des Pyrénées Orientales, à savoir la Têt, et a pour objectif majeur de déterminer l'impact des activités humaines -mesuré par l'ensemble des outils de diagnostic cités précédemment- sur les communautés microbiennes (bactéries et archées). Dans ce contexte, l'étude de ces communautés est très pertinente en raison de leur forte capacité à répondre rapidement à des changements environnementaux. Dans le cadre de cette étude, on ciblera plus particulièrement la diversité microbienne présente dans les biofilms des matières en suspension, qu'on étudiera par la méthode de « metabarcoding ». Seront présentés les premiers résultats des campagnes d'échantillonnages réalisés lors de crues et étiages sur une année complète. Ce travail pourra déboucher sur l'identification de nouveaux bio-indicateurs ou biocapteurs microbiens spécifiques, offrant alors un nouvel outil de détection des multi-stress.

Références bibliographiques :

- Garcia-Esteves J, Ludwig W, Kerhervé P, Probst JL et Lespinas F (2007). Predicting the impact of land use on the major element and nutrient fluxes in coastal Mediterranean rivers: the case of the Têt River (Southern France). *Appl. Geochem.*, 22, 230–248.
- Palacios C, Zettler E, Amils R et Zettler LA (2008). Contrasting microbial community assembly hypotheses: a reconciling tale from the Río Tinto. *PLOS One*, 3(12): e3853.
- Vouvé F, Buscaïl R, Aubert D, Labadie P, Chevreuil M, Canal C, Desmousseaux M, Alliot F, Amilhat E, Faliex E, Paris-Palacios S Biagianni-Risbourg S (2014). Bages-Sigean and Canet-St Nazaire lagoons : Physico-chemical characteristics and contaminant concentrations (Cu, Cd, PCB and PBDE) as environmental quality of water and sediment. *Environmental Science and Pollution Research*, 21, 4, 3005-20.

INFLUENCE DES OSCILLATIONS REDOX SUR LES COMMUNAUTES MICROBIENNES HYDROCARBONOCLASTES DES SEDIMENTS COTIERS

TERRISSE Fanny¹, CRAVO-LAUREAU Cristiana¹, DUMBRELL Alex³, McGENITY Terence³, GOÑI-URRIZA Marisol¹, GONDARD Mathilde¹, GASSIE Claire¹, ABELLA Justine¹, CAGNON Christine¹, DUBOSCQ Karine², JÉZÉQUEL Ronan², DURAN Robert¹

¹ EEM, Equipe Environnement et Microbiologie, IPREM UMR CNRS-UPPA 5254, IBEAS BP1155, 64013 Pau cedex.

² Cedre Centre de Documentation, de Recherche et d'Expérimentations sur les pollutions accidentelles des eaux, 715 rue Alain Colas, CS 41836, 29218 Brest cedex 2.

³ University of Essex, School of Biological Sciences, Colchester CO4 3SQ, Essex, England.

Les sédiments côtiers hébergent des processus biologiques majeurs menés par des communautés microbiennes abondantes et diversifiées. Peu d'attention a été consacrée à l'influence des conditions environnementales fluctuantes, telles que les oscillations anoxie/oxie, régissant l'organisation des communautés microbiennes, leur dynamique et leur rôle dans la biodégradation des hydrocarbures.

A partir d'un sédiment côtier contaminé par du pétrole en mésocosmes¹, trois communautés microbiennes hydrocarbonoclastes ont été obtenues en appliquant un traitement biologique (B : ajout d'organismes bioturbateurs), un traitement mécanique (H : hersage) et un contrôle (P : pétrole seul). Afin de caractériser l'effet des oscillations anoxie/oxie, les trois communautés microbiennes ont été incubées dans des bioréacteurs. Leurs réponses aux oscillations (2 périodes d'aération de un jour) ont été étudiées sur une période de 15 jours. Le taux d'expression du gène de l'ARNr 16S (nombre de copies ADNc/ADN) a révélé que les oscillations anoxie/oxie stimulaient la communauté P, alors que pour les communautés H et B les taux restent stables. Concernant les communautés microbiennes sulfato-réductrices, un effet positif sur le taux d'expression du gène *dsrAB* a été observé pour la communauté P, tandis que l'effet a été négatif pour les communautés H et B. Ces observations révèlent un potentiel d'adaptation différent de ces communautés qui se traduit par des capacités de biodégradation différentes ($P \geq H > B$). Une caractérisation approfondie de ces communautés (NGS) a été l'opportunité de décrire les réseaux microbiens mis en jeu, informations cruciales pour estimer l'impact d'une pollution pétrolière sur les écosystèmes où les fluctuations d'oxygénation sont importantes.

Références bibliographiques :

¹Stauffert et al, 2013. PlosOne. 8(6): e65347

IMPACT DE CONCENTRATIONS ELEVEES EN OZONE SUR LES COMMUNAUTES MICROBIENNES RHIZOSPHERIQUES DE BLE

CHANGEY Frederique¹, BAGARD Matthieu¹, SOULEYMANE Moussa¹, LERCH Thomas¹

1) Institut d'Ecologie et de Sciences de l'Environnement de Paris (CNRS-UPEC- UPMC-IRD- Université Paris Diderot-INRA), Université Paris-Est Créteil, 60, avenue du Général de Gaulle, 94010 Créteil Cedex.

L'ozone (O₃) est un polluant photochimique secondaire dont la concentration a augmenté de façon significative au cours des dernières décennies (Naja *et al.*, 2003). Ce gaz est responsable de réductions des rendements agricoles et de la production de biomasse végétale des écosystèmes forestiers et prairiaux. Bien que les microorganismes de la rhizosphère soient en étroite relation avec le fonctionnement des plantes (Lynch, 1990), très peu d'études ont été menées sur les répercussions d'un stress des plantes à l'O₃ sur ces communautés microbiennes (Li *et al.*, 2012). L'expérience que nous avons menée constituait à fumiger à l'O₃ (70ppb) pendant trois semaines deux cultivars de blé de tolérance différente à l'ozone (Premio et Soissons) et à deux températures (20°C et 30°C). L'impact de l'O₃ a été mesuré sur les paramètres physiologiques des végétaux (teneur en chlorophylle, biomasse aérienne et racinaire), sur les caractéristiques physicochimiques du sol (pH et Carbone Organique Dissout) et sur les microorganismes de la rhizosphère. La caractérisation de la structure des communautés microbiennes (bactéries, champignons et archées) a été évaluée par T-RFLP et qPCR. La diversité fonctionnelle a quant à elle été estimée par la technique MicroResPTM. Les résultats obtenus montrent un effet significatif de l'ozone sur les plantes (en réduisant en particulier leur biomasse racinaire), des changements physico-chimiques ainsi que des modifications de structures de la communauté microbienne rhizosphérique.

Mots-clés : Rhizosphère, Ozone, Température, Communautés microbiennes

Références bibliographiques :

- Li et al. (2012). Shifts of functional gene representation in wheat rhizosphere microbial communities under elevated ozone. *The ISME Journal* 7, 660–671
- Lynch, J.M. (1990). *The rhizosphere*. Wiley New York, N.W.
- Naja et al. (2003) Ozone in Background and Photochemically Aged Air over Central Europe: Analysis of Long-term Ozonesonde Data from Hohenpeissenberg and Payerne. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*. 108, 1985-2012

LES EFFETS DES ANTIBIOTIQUES SUR LES PROCESSUS BIOGEOCHIMIQUES

ROOSE-AMSALEG Céline et LAVERMAN Anniet

Laboratoire METIS (Milieux Environnementaux, Transferts et Interactions dans les hydrosystèmes et les Sols) UMR 7619, Sorbonne Universités, CNRS, Université Pierre et Marie Curie, 4 place Jussieu, 75252 Paris Cedex 05, France

L'écotoxicologie microbienne étudie les conséquences écologiques de pollutions à l'échelle des communautés microbiennes. Faisant souvent appel à des inventaires taxinomiques moléculaires, cette discipline explore plus rarement les conséquences sur les processus associés. Nous nous sommes donc intéressés aux effets des antibiotiques sur les cycles biogéochimiques. Si preuve n'est plus à faire de l'omniprésence des antibiotiques dans les milieux naturels, leurs effets sur des grandes fonctions écologiques est loin d'être consensuel.

Dans ce travail nous dressons un bilan des principales études expérimentales traitant de l'effet des antibiotiques sur des différents processus écologiques. Ce sont surtout des réactions du cycle de l'azote qui sont étudiées (15 études) en raison de leur intérêt économique dans les systèmes d'épuration des eaux usées (dénitrification, nitrification et anammox). Néanmoins, quelques études portent sur le cycle du phosphore et du carbone. Nous avons identifiés des paramètres indispensables à prendre en considération pour mener des études fiables de l'effet des antibiotiques sur des processus comme la durée de l'expérimentation (> croissance micro-organismes), et l'exposition en continu de l'antibiotique. Même si expérimentalement des effets (inhibiteurs) sont rarement observés à concentrations environnementales d'antibiotiques, les rares études qui en démontrent, alertent quant au risque que ces molécules en milieu naturel peuvent représenter.

Références bibliographiques :

- C. Yan, Q. T. Dinh, M. Chevreuil, J. A. Garnier, C. Roose-Amsaleg, P. Labadie, A. M. Laverman 2013. The effect of environmental and therapeutic antibiotic concentrations on nitrate reduction rates in sediment. *Water Research*, 47, 3654-3662.
- C. Roose-Amsaleg, C. Yan, A. M. Hoang, A. M. Laverman 2013. Chronic exposure of river sediments to environmentally relevant levels of tetracycline affects bacterial communities but not denitrification rates. *Ecotoxicology* 22, 1467-1478.

POSTER SESSION 4:

IMPACTS DE LA PRESENCE D'UN COUVERT VEGETAL ET DU TEMPS SUR LA DIVERSITE MICROBIENNE D'UN SOL MULTICONTAMINE

BOURCERET Amélia¹, LEYVAL Corinne¹, POUPIN Pascal², BEGUIRISTAIN Thierry¹, CEBRON Aurélie¹

LIEC, Laboratoire Interdisciplinaire des Environnements Continentaux, UMR7360 CNRS, Université de Lorraine, (1) Faculté des Sciences, Bd des Aiguillettes, BP70239, 54506 Vandoeuvre-les-Nancy, (2) Campus Bridoux - Rue du Général Delestraint, 57070 Metz.

En Lorraine, les sols multicontaminés de nombreuses friches industrielles présentent de fortes teneurs en hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et en métaux lourds. Bien que l'atténuation naturelle de la pollution et la structure des communautés microbiennes d'un sol historiquement contaminé NM (ancienne cokerie-aciérie de Neuves-Maisons, 54) ait été suivie pendant 7 ans, grâce à 24 parcelles expérimentales mises en place *in situ* en 2005 (Cébron et al. 2009, 2011 ; Thion et al. 2012), la diversité microbienne restait inexplorée. Pour mieux comprendre l'impact d'un couvert végétal et les modifications temporelles des communautés, la diversité bactérienne et fongique a été étudiée plus finement dans deux conditions (en triplicats) et à trois temps différents. Les conditions NM-TN et NM-Msm, correspondent respectivement au sol NM non planté maintenu en terre nue et au sol NM planté avec de la luzerne (*Medicago sativa*) et inoculé avec des champignons mycorhiziens ; les 3 temps étudiés sont : le temps initial, après 2 ans et après 6 ans sur site (T0, T4 et T12). L'abondance bactérienne et fongique a été évaluée par PCR quantitative en temps réel. La diversité bactérienne (ADNr 16S) et fongique (ITS) des 18 échantillons ont été analysées par pyroséquençage 454. Les résultats montrent que les indices de diversité bactérienne et fongique sont positivement corrélés avec la biomasse du couvert végétal (luzerne) alors que seule l'abondance fongique est plus importante en présence de plante. De plus, la présence de luzerne favoriserait l'émergence de certains phyla et genres d'intérêts, notamment connus pour être impliqués dans la biodégradation des HAP. Bien que la teneur en HAP n'ait diminué que de moitié en 6 ans, cette diminution semble favoriser une diversité plus importante en bactéries et champignons.

Références bibliographiques :

Cébron, A., Beguiristain, T., Faure, P., Norini, M. P., Masfaraud, J. F., & Leyval, C. (2009). Influence of vegetation on the *in situ* bacterial community and polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) degraders in aged PAH-contaminated or thermal-desorption-treated soil. *Applied and environmental microbiology*, 75(19), 6322-6330.

Cébron, A., Cortet, J., Criquet, S., Biaz, A., Calvert, V., Caupert, C., ... & Leyval, C. (2011). Biological functioning of PAH-polluted and thermal desorption-treated soils assessed by fauna and microbial bioindicators. *Research in microbiology*, 162(9), 896-907.

Thion, C., Cébron, A., Beguiristain, T., & Leyval, C. (2012). Long-term *in situ* dynamics of the fungal communities in a multi-contaminated soil are mainly driven by plants. *FEMS microbiology ecology*, 82, 169-181.