

Les activités enzymatiques

Nathalie CHEVIRON¹, Jean TRAP², Christelle MARRAUD¹, Wassila RIAH², Steven CRIQUET³, Karine LAVAL², Isabelle GATTIN² et Christian MOUGIN¹

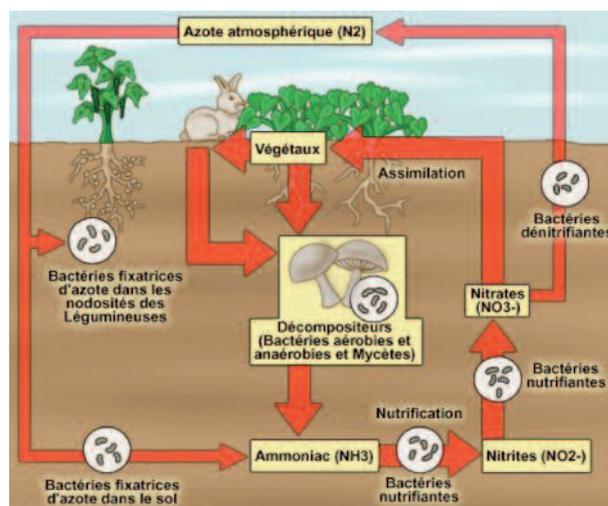


DESCRIPTION DE L'INDICATEUR

Nom de l'indicateur : Depuis plusieurs décennies, les activités enzymatiques sont considérées comme de bons indicateurs du fonctionnement biochimique des sols, qu'ils soient naturels ou anthropisés. Souvent associées à l'activité des microorganismes, elles permettent la fourniture par le sol de nombreux services écosystémiques tels que le développement des plantes cultivées, la productivité animale, la qualité de l'environnement, la santé humaine...

Figure 1 : Rôle des microorganismes et de leurs enzymes dans le cycle de l'azote

Type d'indicateur : Associées aux grands cycles biogéochimiques comme celui de l'azote (Figure 1), sensibles à bon nombre de pressions anthropiques, les activités enzymatiques des sols présentent un potentiel important de bioindication. Ce sont des biomarqueurs de fonctionnement du sol.



DESCRIPTION DE LA MÉTHODE

Malgré les grandes controverses portant sur l'interprétation des résultats issus des mesures d'activités enzymatiques dans les sols, nombres de techniques ont été développées pour un panel large d'enzymes, incluant des hydrolases et oxydoréductases. Celles-ci diffèrent par la nature du substrat utilisé, les conditions opératoires (notamment de pH), les temps d'incubation et les méthodes de détection (colorimétrie, fluorimétrie ou radiomarquage).

Les différentes étapes sont (Figure 2) :

- Prélèvement de sols sur 0-20 cm d'un échantillon représentatif de la parcelle (3-5 points par parcelle)
- Homogénéisation, tamisage et pesée des sols
- Préparation d'une solution de sol, et répartition en microplaques
- Ajout d'un substrat spécifique et incubation
- Arrêt de la réaction et lecture au spectrophotomètre
- Sortie et analyse des résultats

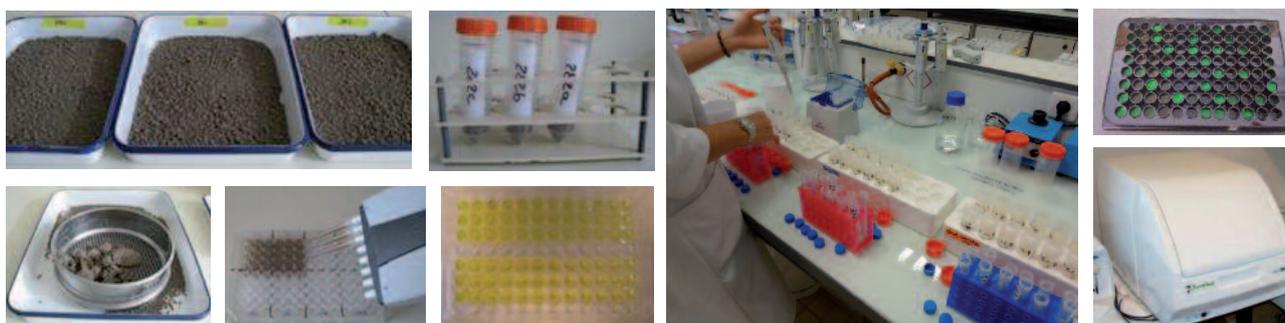


Figure 2 : Descriptif des différentes étapes de mesure des activités enzymatiques

Les activités sont calculées de façon automatique dans des fichiers types (Figure 3), et exprimées en unité (U) ou milli-unité (mU) par gramme de sol sec, directement dans un fichier. Les données peuvent ainsi être rapidement générées et analysées.

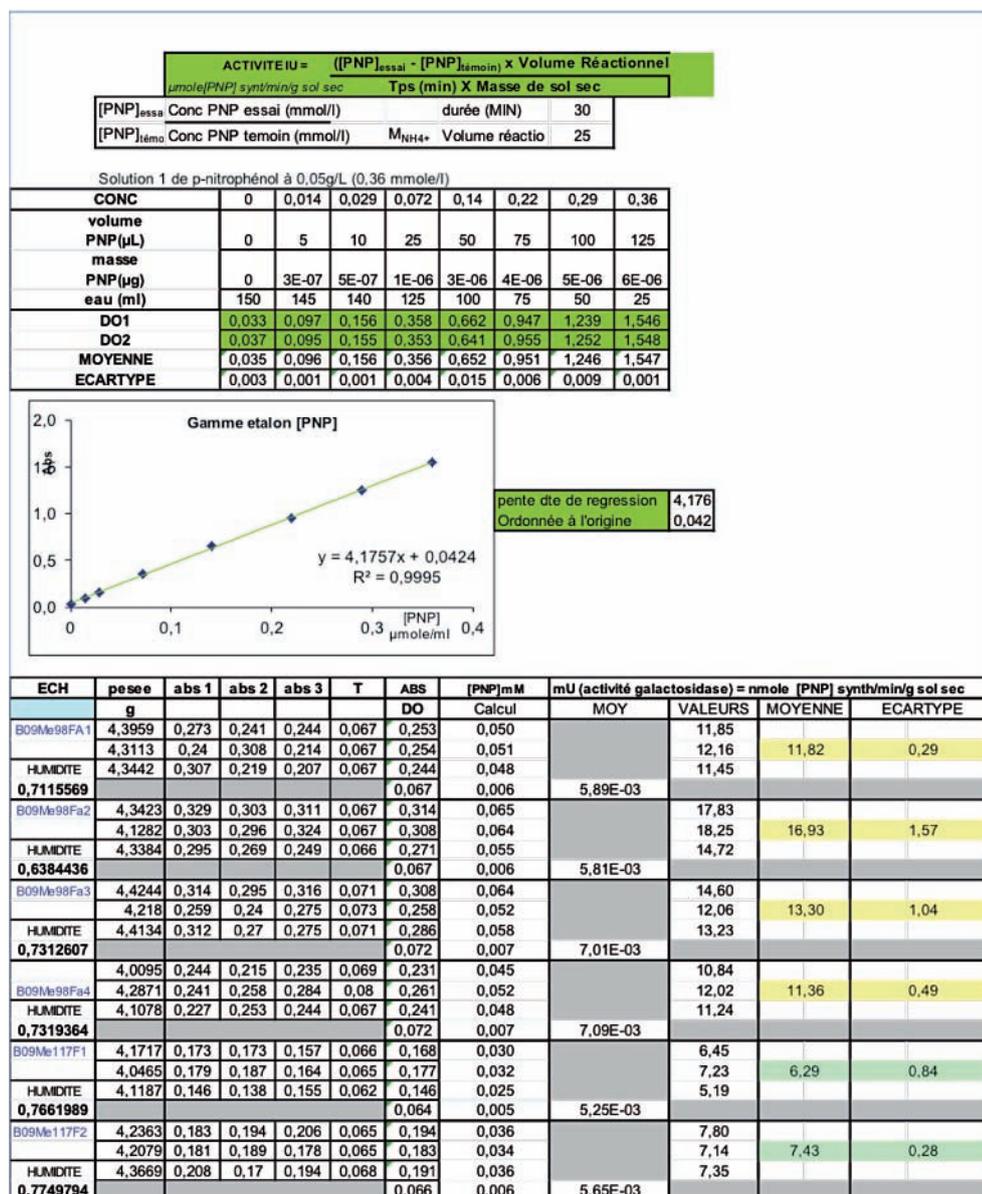


Figure 3 : Exemple de tableau de calcul des activités enzymatiques

INTERÊTS ET LIMITES DE LA MÉTHODE

Les intérêts de ces indicateurs sont d'avoir une **vision sur l'ensemble des cycles** de dégradation de la matière organique, d'être **très sélectifs** et **très sensibles** donc utilisables à faibles niveaux d'activité. De plus, les méthodes de mesures des activités enzymatiques des sols sont **simples** à mettre en œuvre, et **peu coûteuses**.

Néanmoins, le suivi de ces activités présente quelques limites. Actuellement, la réalisation des mesures d'activités dans les sols laisse peu de place à des méthodes rapides et automatisables permettant le suivi d'un grand nombre d'échantillons. Les données obtenues sont alors souvent fragmentaires. Une meilleure interprétation des résultats impliquerait de **disposer de situations de référence** permettant d'évaluer des variations spatiotemporelles naturelles. Il faut également **accéder à de multiples situations de perturbations** incluant l'usage des sols, la couverture végétale, les intrants chimiques. L'ensemble de ces résultats, obtenus selon des protocoles normalisés, doit permettre la **construction de référentiels** pour leur interprétation. Une autre contrainte forte réside dans la disponibilité de méthodes de stockage des échantillons non préjudiciable aux activités. Enfin, les mesures d'activités enzymatiques doivent être associées avec celles d'autres indicateurs biologiques et physicochimiques.

EXEMPLE D'APPLICATION

Les mesures de **nombreuses activités enzymatiques** impliquées dans les cycles du carbone, de l'azote, du phosphore et du soufre ont été réalisées à grande échelle dans le cadre des projets Bioindicateurs I & II soutenus par l'ADEME. Ces projets avaient parmi leurs objectifs d'améliorer nos connaissances du fonctionnement biologique des sols afin de fournir **des indicateurs de qualité des sols**, et ainsi de pouvoir **orienter plus judicieusement les procédures de gestion des sols**. Il s'agit notamment **d'évaluer la sensibilité** et les **limites à l'utilisation** de ces indicateurs, **d'élaborer un référentiel d'interprétation** des données et de transférer les résultats pour **l'évaluation des risques**.

Exemple d'application aux pratiques agricoles

L'effet des pratiques agricoles sur les activités enzymatiques a été mis en évidence dans beaucoup de cas (Figure 4) et nous avons pu montrer que :

- Les **rotations culturales** affectent significativement les **13 activités enzymatiques** étudiées (avec des seuils de significativité différents)
- Le **travail du sol** affecte significativement **7 activités** enzymatiques
- Les **amendements organiques** ont un effet significatif sur **6 activités enzymatiques**

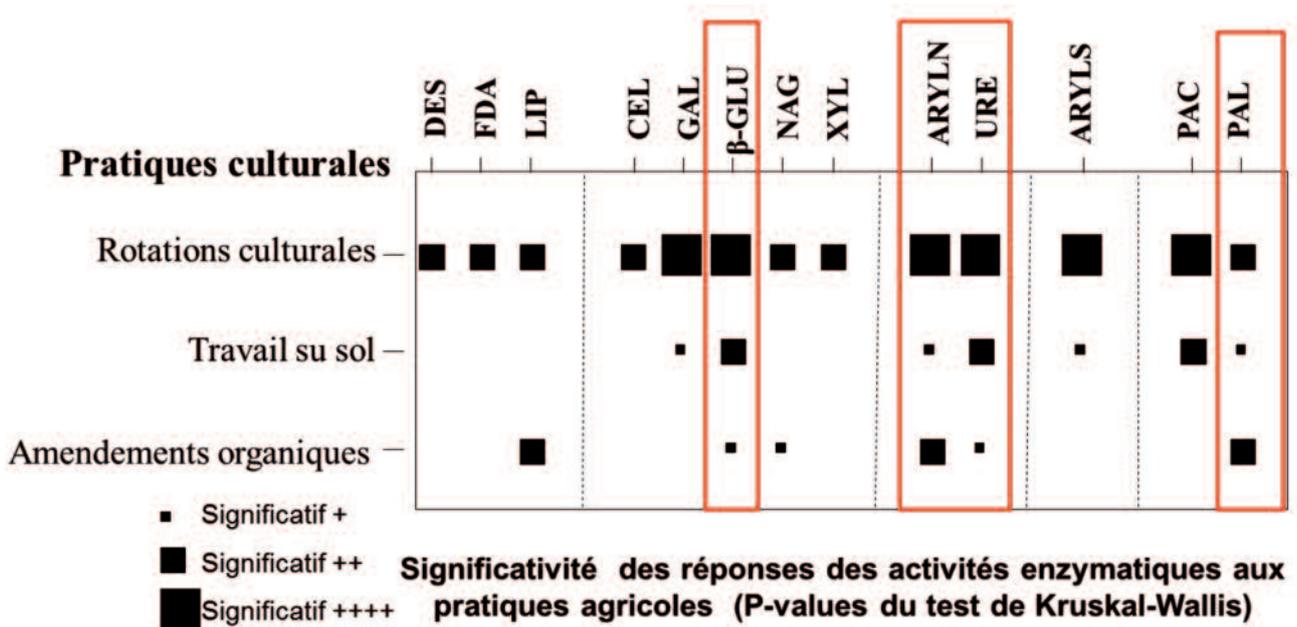


Figure 4 : Réponses des activités enzymatiques aux pratiques agricoles

Quatre activités enzymatiques se distinguent et répondent aux 3 pratiques agricoles :
Phosphatase alcaline – Uréase – β-glucosidase – Arylamidase



Exemple d'application aux sites contaminés

Les résultats obtenus sur les sites contaminés (Figure 5) montrent que :

- Les **contaminations métalliques et à l'arsenic** affectent respectivement **11 et 13 activités enzymatiques**
- Une **contamination organique** n'impacte significativement que **2 activités enzymatiques**.

Les mesures réalisées sur les sites contaminés du programme ont permis de :

- Discriminer les parcelles sous cultures des parcelles sous forêt
- Discriminer différents niveaux de contamination sous forêt
- Hiérarchiser l'effet des contaminants sur le fonctionnement biologique des parcelles étudiées
- Discriminer l'effet du niveau de contamination par rapport au couvert végétal en mettant en évidence le rôle prépondérant de certaines activités enzymatiques.
- Définir 2 activités enzymatiques qui répondent significativement, quelle que soit la contamination : **l'arylamidase (ARYL-N)** et **la phosphatase alcaline (PAK)**.

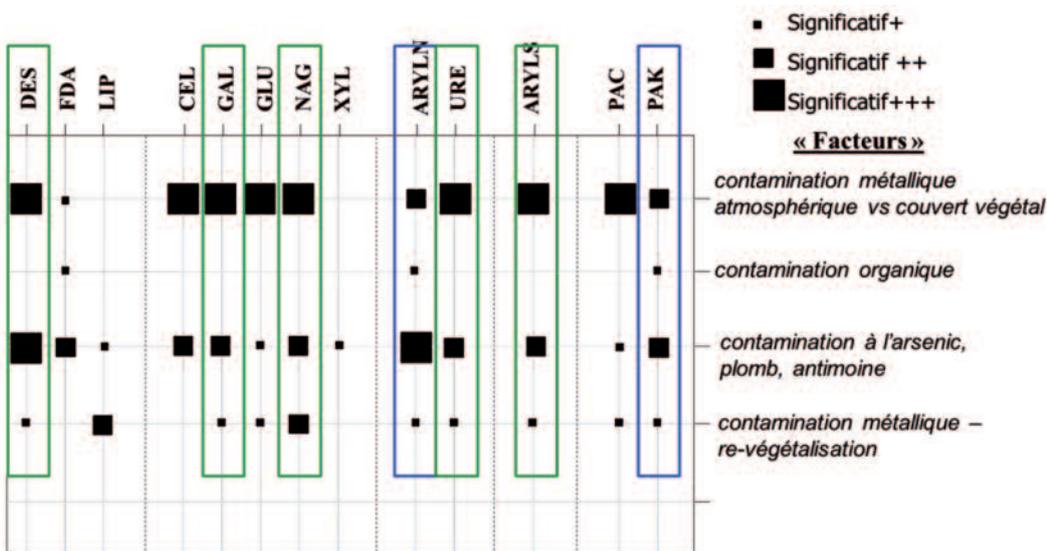


Figure 5 : Réponses des activités enzymatiques aux contaminations (cadre bleu les enzymes répondant à tous les facteurs; cadre vert, les enzymes répondant uniquement aux contaminations métalliques)

PERSPECTIVES

Notre objectif, pour faciliter le diagnostic de l'état biochimique des sols basé sur la mesure des activités enzymatiques, est de pouvoir choisir ces activités en fonction de la question agronomique ou environnementale posée, et de les replacer dans un référentiel. Pour cela, l'élaboration un indice multienzymatique est indispensable. Il devra être basé sur des activités enzymatiques affectées significativement par un ensemble de facteurs, des données agronomiques ou des services écosystémiques à l'instar de l'indice de Puglisi *et al.* (2006).



1-Unité PESSAC, INRA de Versailles-Grignon Route de St-Cyr, 78026 Versailles.
 2-Unité ARGITERR laboratoire BioSol, Esitpa, 3 Rue du Tronquet, 76134 Mont Saint Aignan.
 3-IMBE, UMR CNRS 7263, FST St-Jérôme, 13397 Marseille Cedex 20

CONTACTS
 1- nathalie.chevion@versailles.inra.fr
 2- igattin@esitpa.org
 3- steven.criquet@imbe.fr