



Workshop de présentations et  
échanges sur les thématiques du projet  
AgriAs  
24 Septembre 2018 – BRGM - Orléans



# Bioindicateurs microbiens et mobilité de l'arsenic

J. Hellal, C. Joulian, N. Devau, H. Thouin, F. Battaglia-Brunet

BRGM – Direction eau, Environnement et Ecotechnologies



KWR



# Qu'est ce que la biosurveillance ?

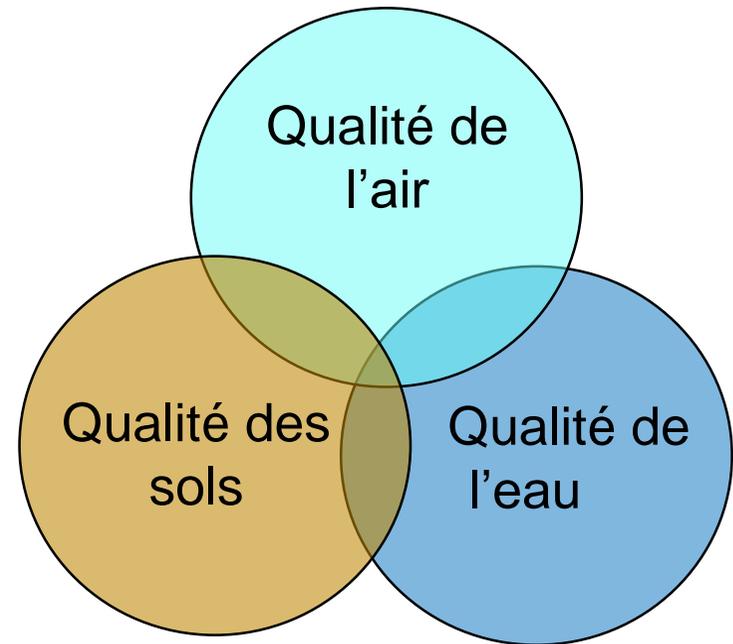
**Biosurveillance** : Utilisation du vivant pour surveiller l'évolution, des modifications, des altérations, ou la stabilité de la qualité d'un milieu.

- Apporte une notion de risque

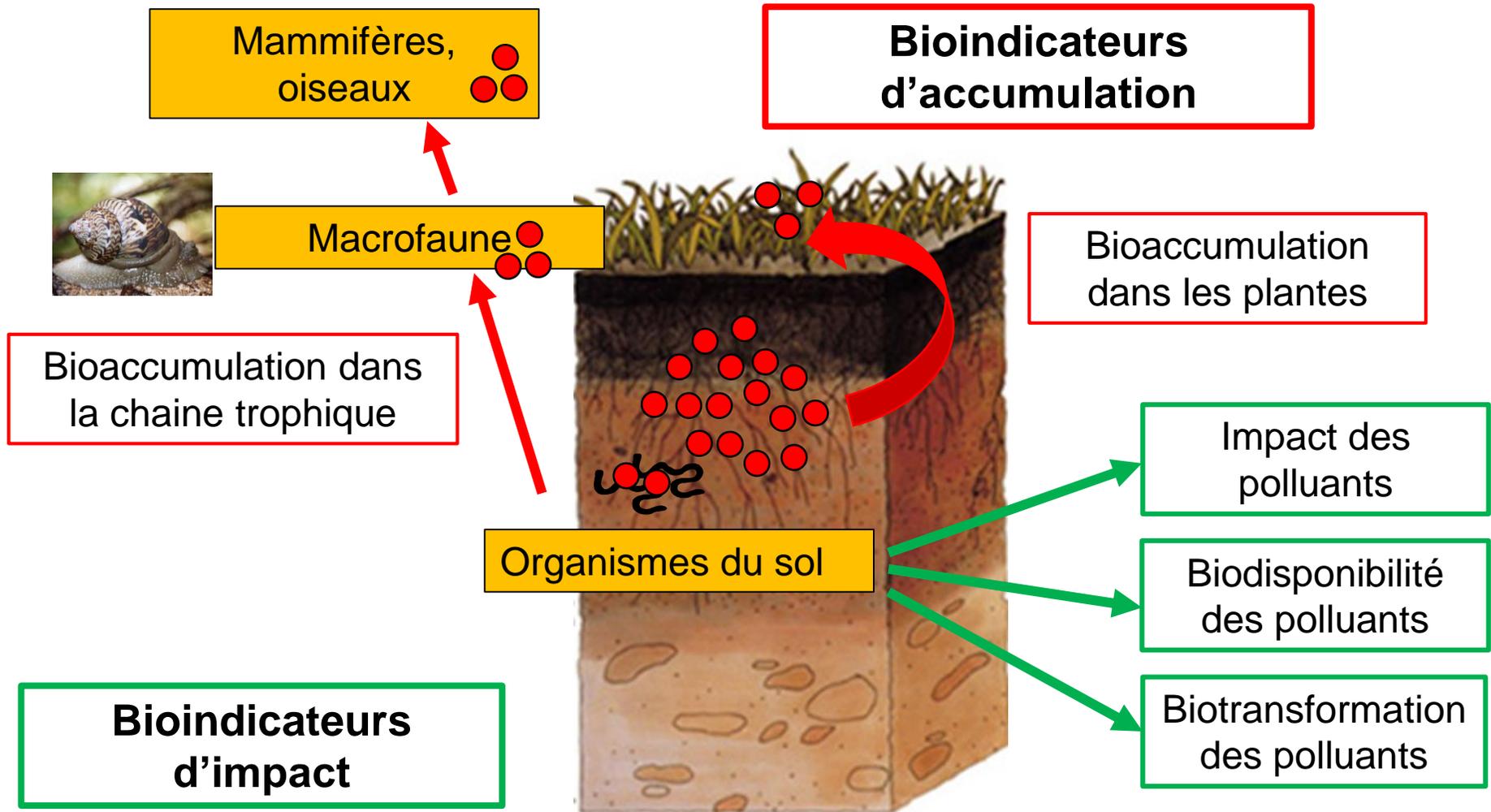
## Bioindicateurs/biomarqueurs

= Outils de la biosurveillance

= Organisme (ou une partie d'un organisme ou une communauté d'organismes) qui renseigne sur l'état et le fonctionnement d'un écosystème



# Bioindicateurs des sols pollués



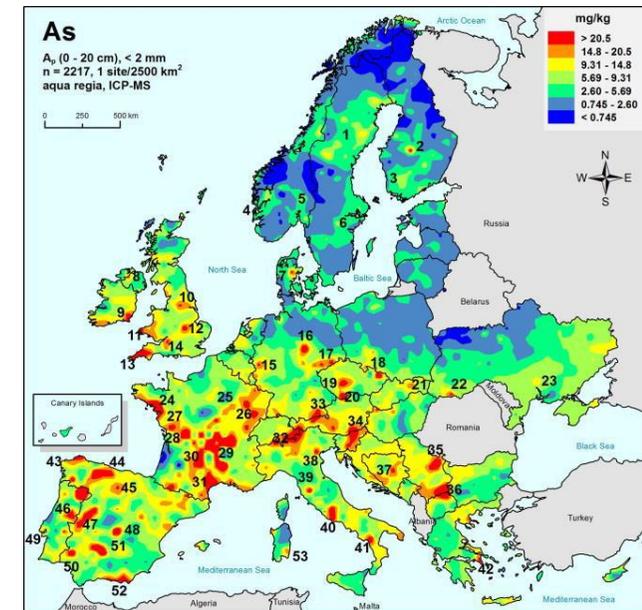
# Bioindicateurs d'impact : Quelles applications ?

- ✓ Identifier les métabolismes présents sur site, en lien étroit avec la caractérisation (initiale et dynamique) des sols des sites pollués pour :
  - Prédire le **comportement** d'un polluant,
  - Evaluer un **potentiel d'atténuation**, de **bioremédiation**, de **biotransformation**,
  - Suivre une bioremédiation,
  - Contribuer à l'identification des zones sources de pollution.
- ✓ Disposer à terme d'une « **boîte à outils** » à utiliser pour le diagnostic biologique de sites pollués



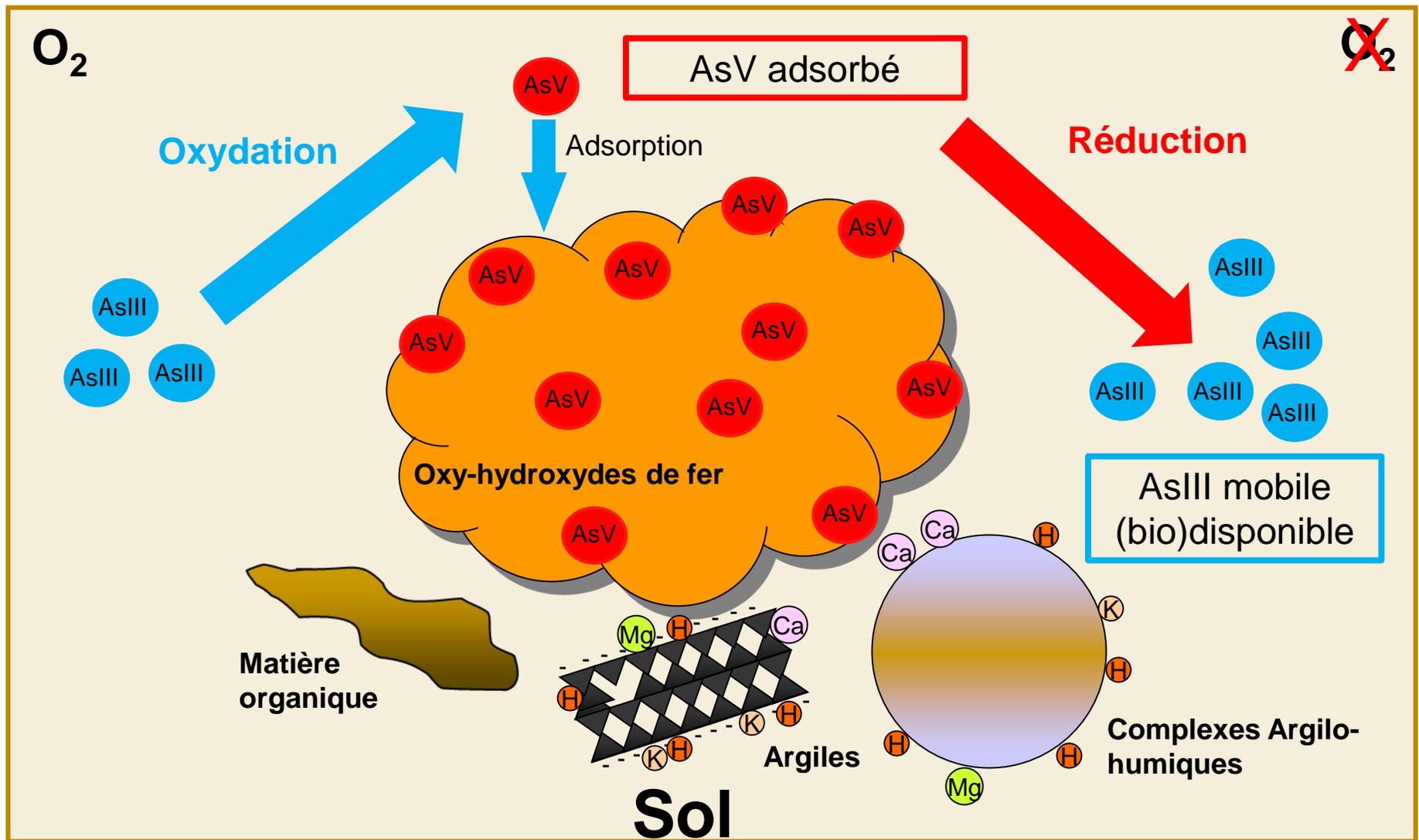
# Et l'arsenic ?

- Toxique, bioaccumulable
- 2 formes principales d'arsenic (As):
  - **Arseniate (AsV)**, fortement adsorbé aux phases minérales
  - **Arsenite (AsIII)** plus mobile et plus toxique
- Pollution à l'As des sols : menace majeure pour les ressources en eau et danger pour la santé publique
- Nécessité de gérer les sites pollués et de prévenir les risques de pollution : prédire le comportement de l'As, les processus impliqués, sa mobilité...



*Distribution de l'arsenic dans les sols agricoles (Tarvainen et al., 2013).*

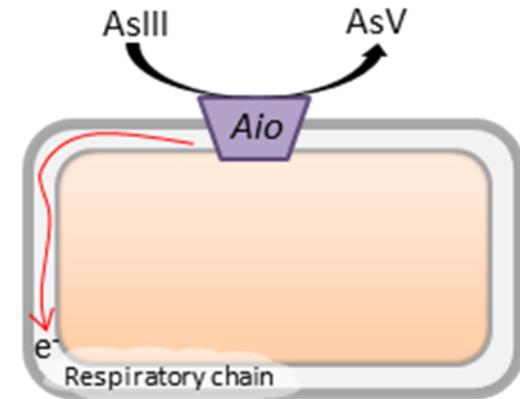
# Rôle des bactéries dans le comportement de l'As



# Rôle des bactéries dans la comportement de l'As

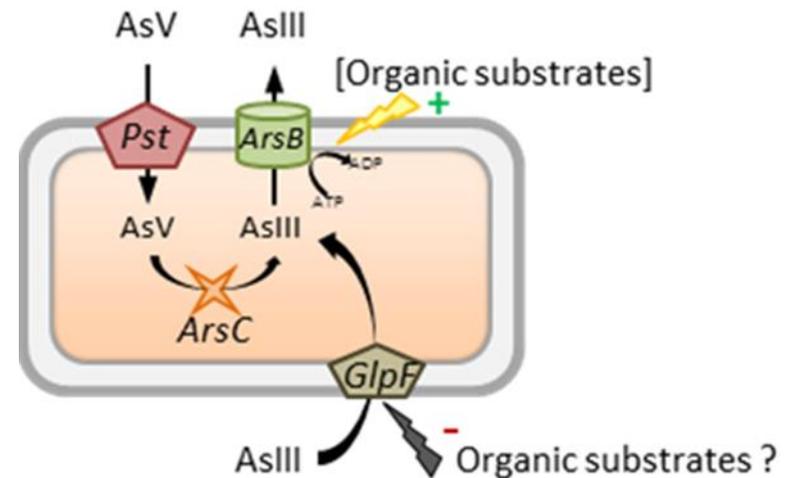
- **Oxidation de l'AsIII via une AsIII-oxydase**

- Contribue à une atténuation de la pollution en As en diminuant sa biodisponibilité
- Détoxification en AsV moins mobile (biodisponible) et moins toxique
- Source d'énergie pour les bactéries
  - Système Aio



- **Réduction de l'AsV via une AsV réductase**

- Augmente la mobilité de l'As sous forme III
  - Réduction respiratoire: système Arr
  - Résistance : système Ars



# Les outils microbiens

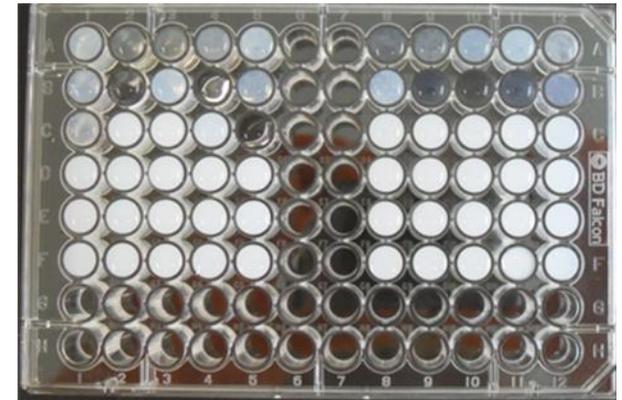
## ADN et PCR quantitative



- Mesurer l'abondance d'un gène fonctionnel
- Estimer l'abondance totale *in situ* des bactéries oxydant ou réduisant l'arsenic

## NPP (nombre le plus probable)

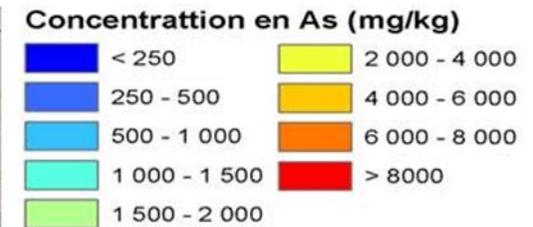
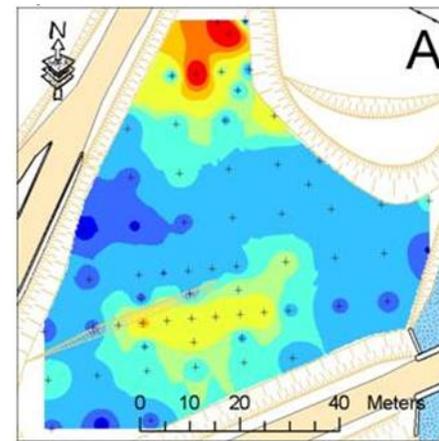
- Estimer le nombre de bactéries actives oxydant ou réduisant l'arsenic



D'autres paramètres (biomasse microbienne, diversité, activités traduisant un impact d'un polluant sur les communautés microbiennes)

# Exemple 1 – Site d’Auzon

- Friche industrielle dite de la « vieille usine » à Auzon (43), inscrite au répertoire des sites pollués référencés.
- Ancienne usine (1903-1949) de production de composés arséniés pour la fabrication de pesticides.
- Pollution en As des sols (jusqu’à 1%), des eaux de la nappe (jusqu’à 7315  $\mu\text{g/L}$ ) et de la rivière Auzon (jusqu’à 97  $\mu\text{g/L}$ ).



# Exemple 1 – Site d'Auzon

---

**Objectif 1** – Rechercher un lien entre teneurs en As et présence de bactéries oxydant l'As

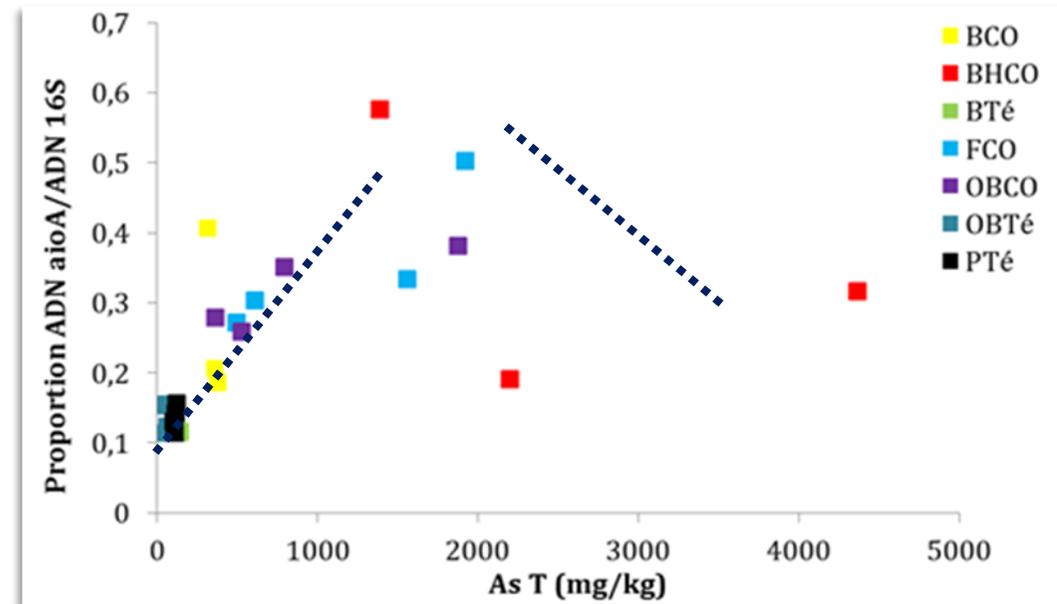
**Objectif 2** – Rechercher un lien entre vitesse d'oxydation de l'As et abondance des gènes *aioA*



# Exemple 1 – Site d’Auzon

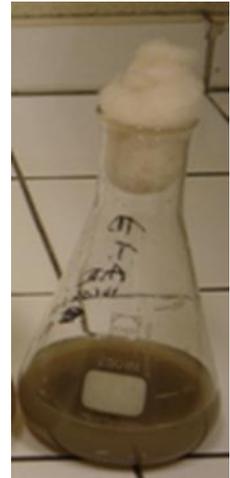
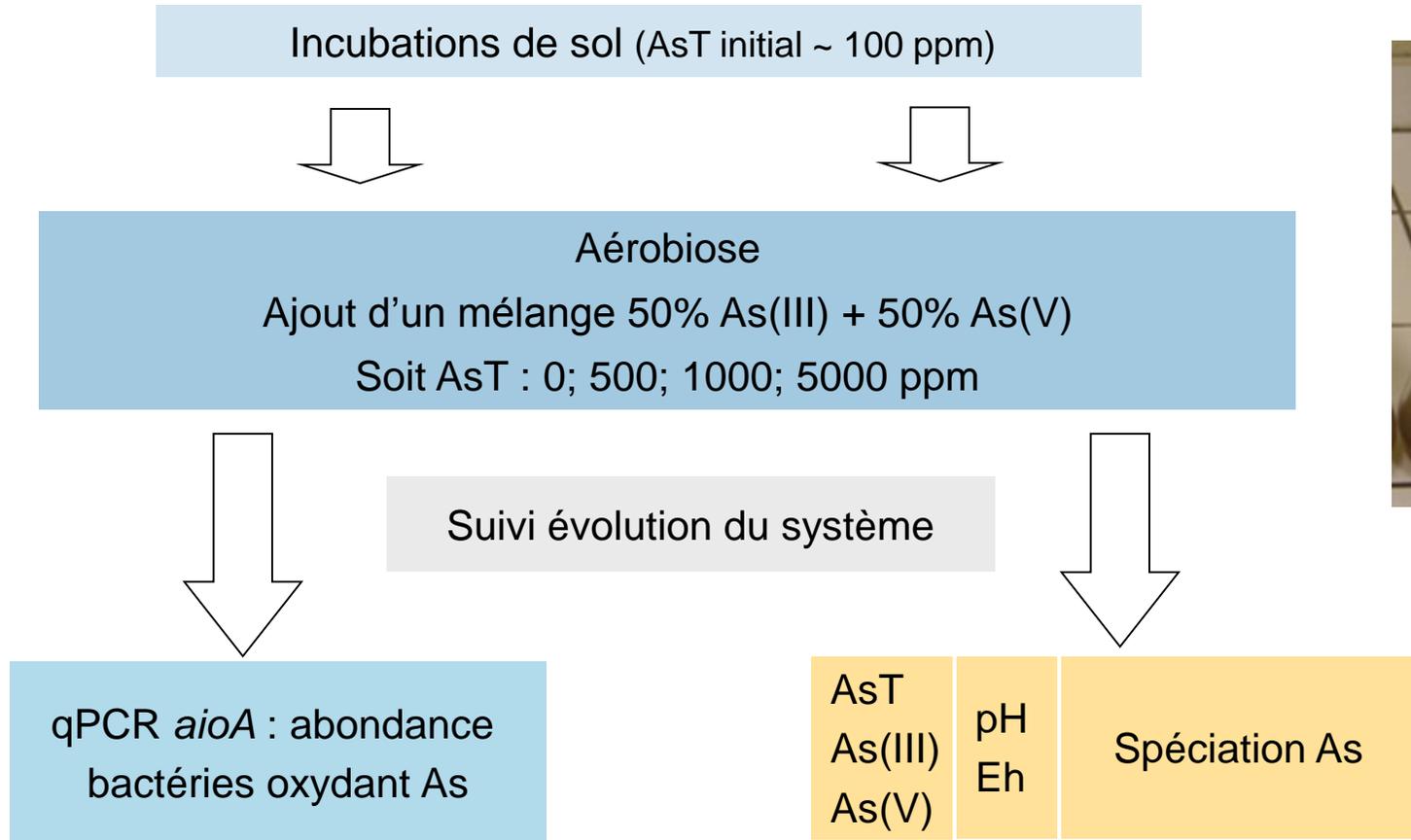
**Objectif 1** – Rechercher un lien entre teneurs en As et présence de bactéries oxydant l’As

- Sols avec différentes quantités d’AsT : de 180 à 9700 ppm
- Gènes *aioA*:
  - Détection dans tous les sols => forte tolérance à l’As des bactéries portant le gène *aioA*
  - Réponse “en cloche” du ratio *aioA*/16S à des quantités croissantes d’AsT
  - => seuil de tolérance? seuil d’inhibition par l’As?

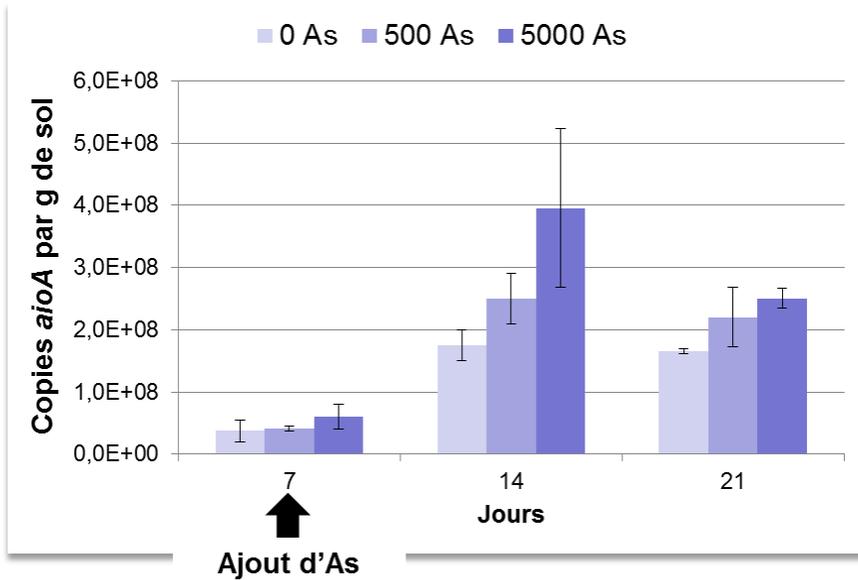


# Exemple 1 – Site d’Auzon

**Objectif 2** – Rechercher s’il existe un lien entre vitesse d’oxydation de l’As et abondance des gènes *aioA*



# Exemple 1 – Site d’Auzon



## Copies *aioA*:

Augmentation pendant la période d'oxydation active de l'As(III) (T7-T14)

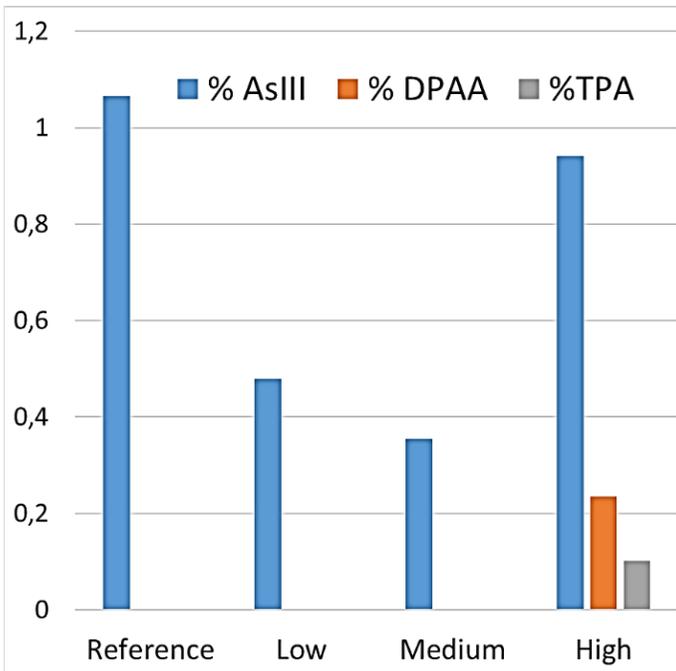
- Effet plus marqué pour l'ajout d'As le plus élevé (5000 ppm) => augmentation d'un facteur 7

Lien entre abondance des gènes fonctionnels, donc de la microflore As(III)-oxydante, et oxydation active d'As(III)

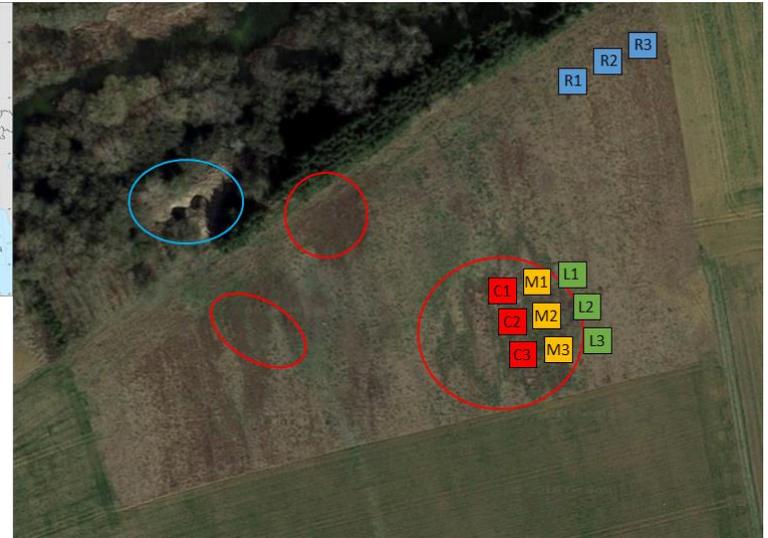
# Exemple 2 – Site de Verdun

## Paramètres du sol et spéciation de l'As

AsV: > 95%



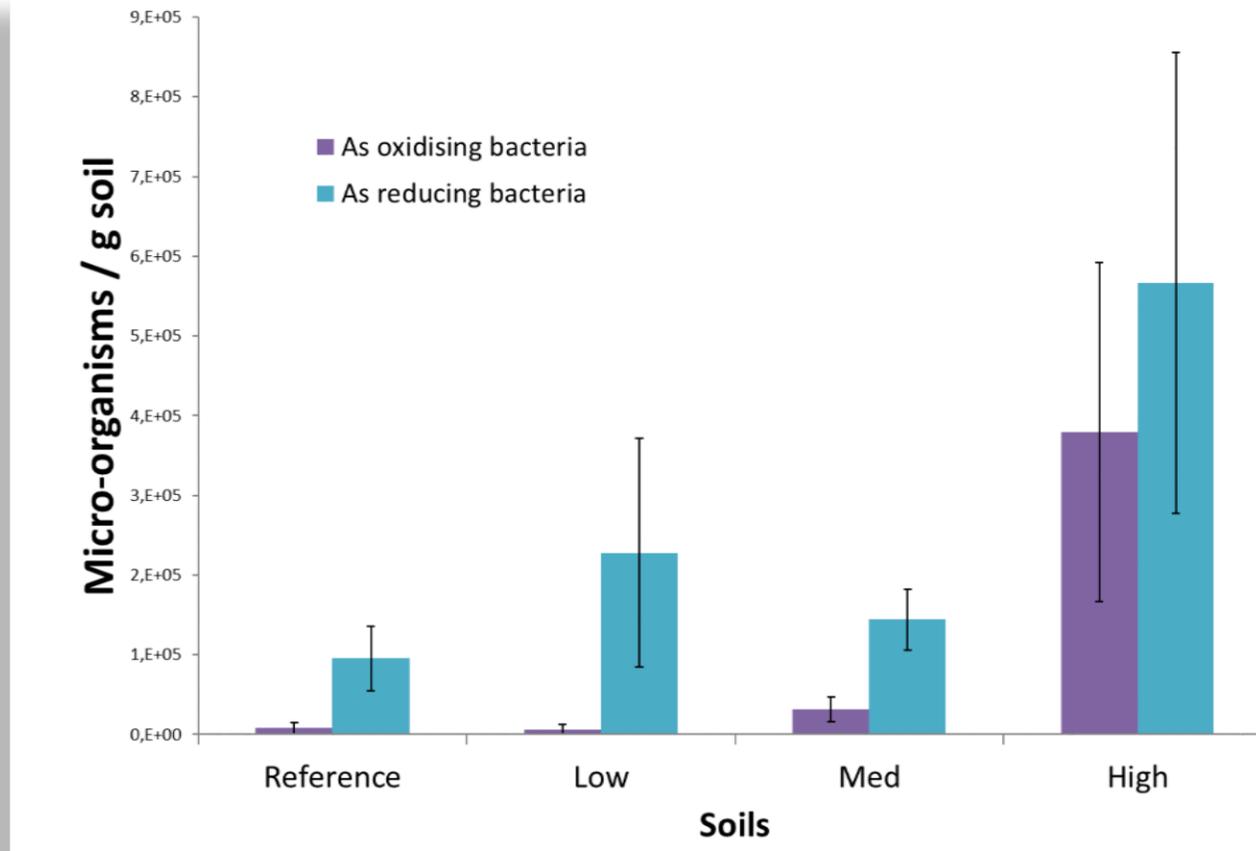
- Weapon destruction areas
- C1 High As-concentrated soils
- M1 Medium As-concentrated soils
- L1 Low As-concentrated soils
- R1 Reference soils



	High	Medium	Low	Control
<b>Total Cu</b>	74.6 ± 3.0	74.3 ± 49.9	26.0 ± 6.7	25.7 ± 1.5
<b>Total Ni</b>	24.4 ± 1.0	28.2 ± 4.8	28.8 ± 4.0	25.2 ± 0.3
<b>Total Pb</b>	45.8 ± 10.0	29.8 ± 4.2	21.0 ± 3.2	21.9 ± 0.1
<b>Total Zn</b>	180 ± 9.9	178 ± 72.3	89.0 ± 11.2	111 ± 2.6
<b>Total As</b>	934 ± 130	194 ± 47.0	40.4 ± 10.4	21.8 ± 0.9
<b>Total Mn</b>	792 ± 17	713 ± 35	779 ± 120	884 ± 47
<b>Edta-Cu</b>	20.7 ± 3.1	17.2 ± 6.2	4.9 ± 2.1	5.8 ± 1.0
<b>Edta-Z</b>	34.5 ± 1.3	23.9 ± 13.2	4.8 ± 1.3	8.0 ± 0.7
<b>Edta-Mn</b>	12.7 ± 1.1	11.0 ± 0.8	12.4 ± 1.1	12.1 ± 0.2
<b>Edta-Fe</b>	26.4 ± 2.3	52.3 ± 49.9	24.0 ± 0.1	29.6 ± 0.7

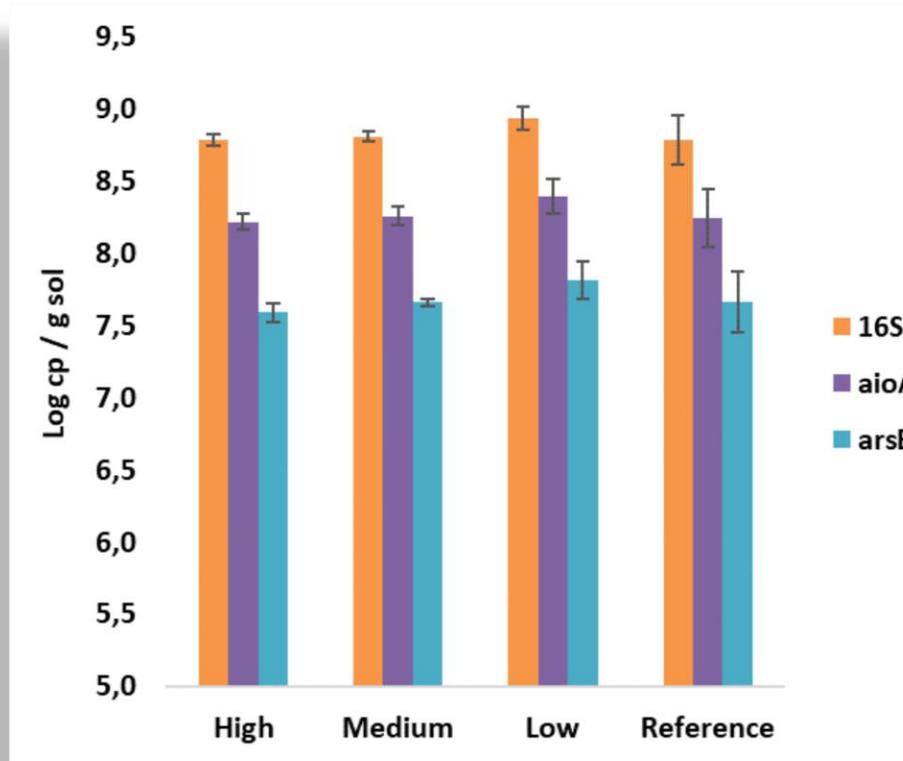
# Exemple 2 – Site de Verdun

## Bioindicateurs - NPP



# Exemple 2 – Site de Verdun

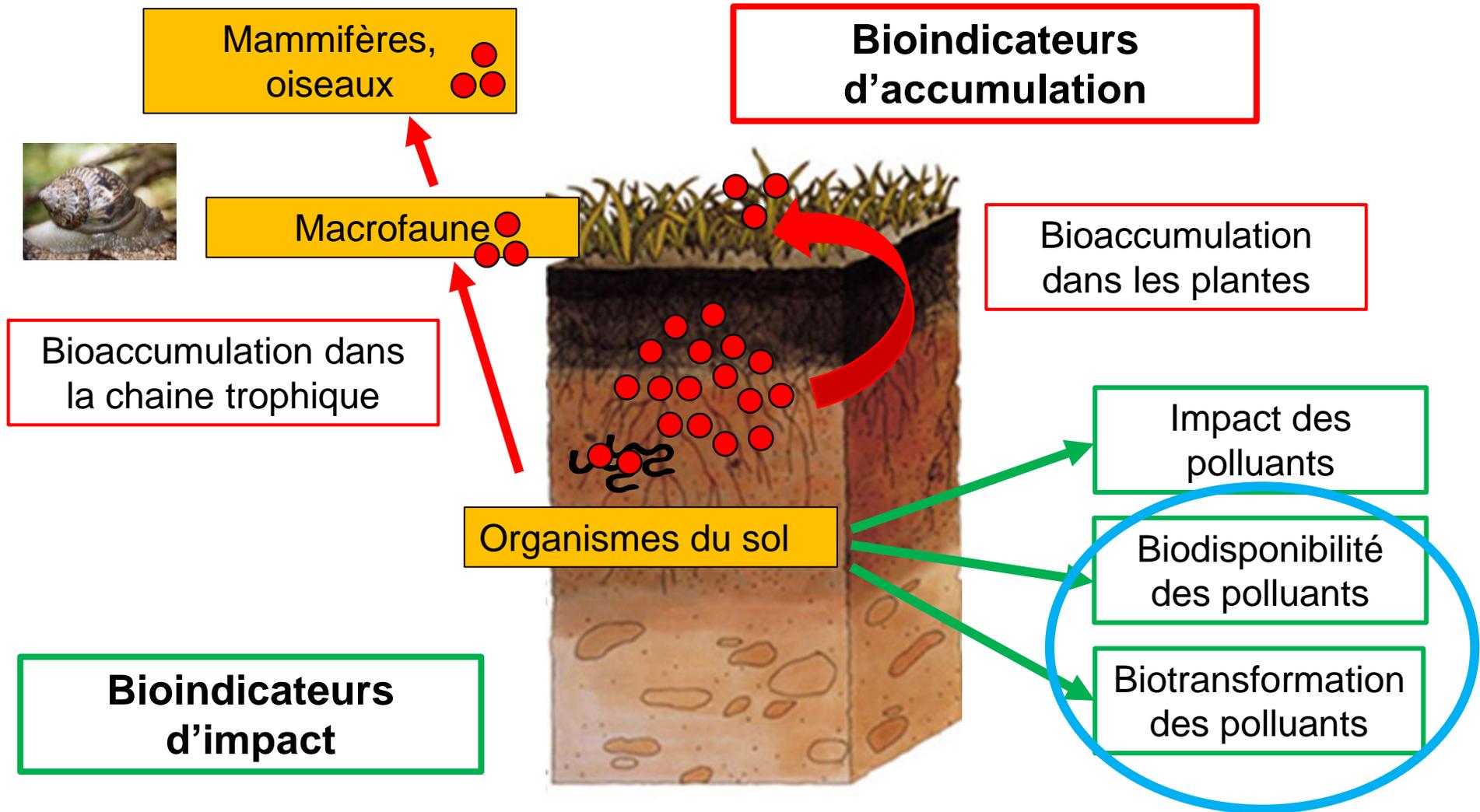
## Bioindicateurs - Approche moléculaire



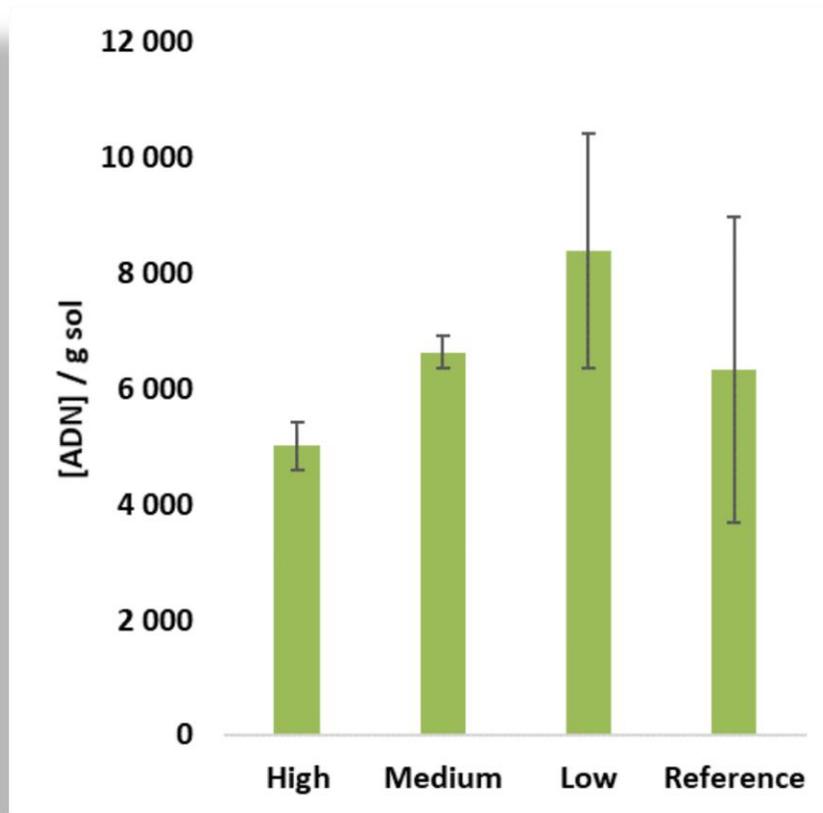
**Abondances des bactéries  
totales, oxydant et réduisant  
l'As**

- Pas d'impact apparent de l'As sur l'abondance des bactéries totales et de celles réduisant ou oxydant l'As

# Bioindicateurs des sols pollués



# La biomasse moléculaire : bioindicateur d'impact



**Biomasse Moleculaire  
(ADN total)  
= indicateur d'impact**



Workshop de présentations et  
échanges sur les thématiques du projet  
AgriAs  
24 Septembre 2018 – BRGM - Orléans



# Merci pour votre attention !

J. Hellal, C. Joulian, N. Devau, H. Thouin, F. Battaglia-Brunet

BRGM – Direction eau, Environnement et Ecotechnologies

[j.hellal@brgm.fr](mailto:j.hellal@brgm.fr)

