

Disponibilité de composés traces organiques dans les sols amendés par des boues d'épuration

Corinne Perrin-Ganier^a, Guy Soulas^b, Henri Ciesielski^c, Giovanni Caria^c,
Hélène Budzinski^d

^a UMR INPL-ENSAI-INRA, Sols et environnement, BP 172, 54505 Vandoeuvre-lès-Nancy
Corinne.Perrin-Ganier@ensaia.inpl-nancy.fr

^b UMR INRA-univ. Bourgogne, Microbiologie et géochimie des sols GEOSSOL, BP 86510, 21034 Dijon cedex

^c INRA, laboratoire d'Analyse des sols, 273 rue de Cambrai, 62000 Arras

^d UMR CNRS-univ. Bordeaux I, laboratoire de Physico- et toxico-chimie des systèmes naturels, 351 cours de la Libération, 33405 Talence cedex

Objectifs

Cette étude vise à connaître la (bio)disponibilité de composés traces organiques (CTO) apportés à un sol agricole par l'épandage de boues d'épuration et à prévoir leur évolution après incorporation dans le sol.

Un effort particulier est porté sur l'amélioration de la fiabilité des méthodes de dosage des CTO dans le sol et la boue.

Des expérimentations centrées sur l'étude du transfert d'un CTO, de sa dégradation et de son impact sur la biocénose dans le système boue-eau-sol-plante, doivent permettre d'obtenir une meilleure compréhension de la (bio)disponibilité des CTO apportés par les boues et, plus globalement, de leur impact environnemental.

On a également mesuré l'impact de l'épandage de boues sur la minéralisation de pesticides.

Cette recherche s'appuie sur le dispositif des 40 parcelles de plein champ situé sur la ferme expérimentale de La Bouzule (propriété de l'École nationale supérieure d'agronomie et de l'Institut national polytechnique de Lorraine) à Vandoeuvre-lès-Nancy (Meurthe-et-Moselle) mis en place dans le cadre du programme pluridisciplinaire ADEME « Effets écotoxicologiques des épandages de déchets en agriculture ».

Mise au point de méthodes de dosage de composés traces organiques

En raison des difficultés que comporte l'analyse de composés traces organiques, les équipes¹ ont travaillé à l'amélioration de la fiabilité des méthodes de dosages.

Une campagne de comparaison des méthodes d'extraction a été entreprise. Elle a été menée à partir du même échantillon de boue² B1, lyophilisée, broyée et homogénéisée et sur un échantillon de sol du site

¹ UMR INPL-ENSAI-INRA, INRA Arras, UMR CNRS-univ. Bordeaux.

de La Bouzule ayant reçu 2 apports de cette boue, séché, broyé, tamisé à 2 mm et homogénéisé. Ces deux types d'échantillons ont ensuite été fournis aux 3 équipes qui ont entrepris une extraction des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) selon un ensemble déterminé de méthodes : ultrasonication, micro-ondes, agitation, soxhlet, extraction accélérée par des solvants sous pression (*accelerated solvent extraction*, ASE). Les HAP ont été purifiés et dosés selon la technique habituellement utilisée dans chaque laboratoire par chromatographie liquide haute performance à détecteur ultraviolet ou par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

Les 9 HAP communs recherchés par les 3 laboratoires sont le naphthalène, le phénanthrène, l'anthracène, le fluoranthène, le pyrène, le benzo(a)anthracène, le benzo(a)pyrène et conjointement l'indéno(1,2,3-cd)pyrène et le benzo(g,h,i)pérylène. La somme de ces composés est considérée comme la quantité totale extraite à partir de chaque méthode.

Les quantités totales de HAP mesurés dans les échantillons de terre peuvent être regroupées en trois groupes A, B et C, significativement différents (fig. 1, ci-après).

Ainsi la méthode ASE utilisant de l'acétonitrile comme solvant (ASE 1) permet d'extraire le plus de HAP à partir du sol, les méthodes d'agitation et d'ultrasonication permettent d'extraire des quantités intermédiaires. Les méthodes micro-ondes et soxhlet ne permettent d'extraire qu'environ 20% de la quantité moyenne extraite par ASE 1. Une très grande différence de rendement est observée entre la méthode ASE 1 et celle utilisant un mélange d'acétone et de dichlorométhane (ASE 2). Par contre, aucune différence significative n'apparaît entre les rendements des méthodes soxhlet 1 (solvant acétone et éther de pétrole) et soxhlet 2 (solvant dichlorométhane).

Dans le cas de la boue, comme pour le sol, la méthode ASE 1 permet d'extraire des quantités significativement supérieures à celles obtenues avec les autres méthodes (fig. 2, ci-après). Cependant les différences de rendement sont moins marquées que dans le cas du sol.

De manière générale, il faut souligner que les méthodes qui permettent les taux d'extraction les plus élevés présentent des écarts types plus larges.

Quel que soit le substrat, on mesure un ordre d'efficacité des méthodes étudiées différent selon le solvant utilisé. Par exemple, selon la méthode ASE utilisée, celle-ci s'avère être la plus efficace ou la moins performante en fonction du solvant employé. Dans la bibliographie, cette méthode est souvent citée comme étant très performante, mais peu sélective selon le solvant utilisé. Les méthodes basées sur le principe de l'agitation mécanique sont réputées être globalement équivalentes.

Il est possible également que le niveau de purification exigé par la technique de dosage induise des pertes plus ou moins importantes lors de cette étape.

Étude du devenir du phénanthrène dans le sol et la plante

Adsorption/désorption par un sol agricole

Le phénomène de l'adsorption d'un HAP par le sol a été étudié par des expérimentations d'adsorption/désorption dans un mélange sol/solution de CaCl_2 10^{-2} M en utilisant un HAP marqué au ^{14}C , le phénanthrène.

Le sol agricole limono-argileux provient de la parcelle « témoin fertilisation haute » du dispositif de La Bouzule.

² Les différents échantillons de boues utilisés dans cette étude proviennent de la même station d'épuration urbaine. La nomenclature utilisée est la suivante : B1 est la boue brute, digérée et liquide ; B2 est la boue B1 déshydratée en station ; B3 est la boue B2 compostée avec des écorces d'arbres.

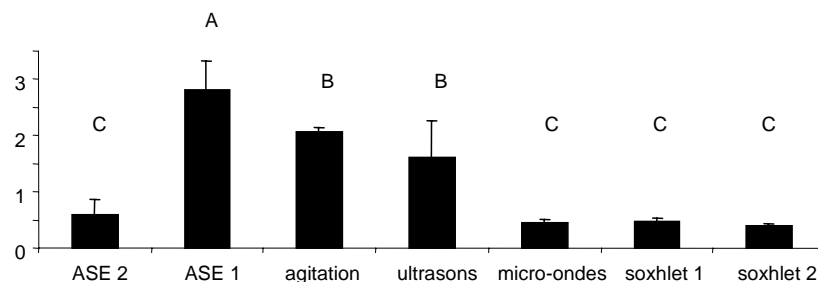


Figure 1. Quantités totales de HAP extraites du sol par les différentes méthodes

En ordonnée : quantités de HAP en mg/kg de sol ; ASE 1 : extraction accélérée par de l'acétonitrile sous pression ; ASE 2 : extraction accélérée par un mélange d'acétone et de dichlorométhane ; soxhlet 1 (solvant acétone et éther de pétrole) ; soxhlet 2 (solvant dichlorométhane).

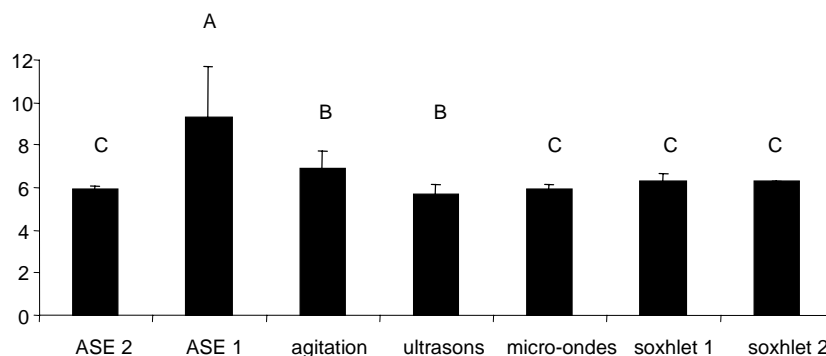


Figure 2. Quantités totales de HAP extraites de la boue par les différentes méthodes

En ordonnée : quantités de HAP en mg/kg de boue ; ASE 1 : extraction accélérée par de l'acétonitrile sous pression ; ASE 2 : extraction accélérée par un mélange d'acétone et de dichlorométhane ; soxhlet 1 (solvant acétone et éther de pétrole) ; soxhlet 2 (solvant dichlorométhane).

La boue apportée est B1, séchée à 40°C au laboratoire.

Les expériences d'adsorption/désorption ont été réalisées sur des échantillons de sol amendé ou non, selon 4 modalités :

- le sol seul ;
- le sol amendé par la boue ;
- le sol enrichi en éléments traces métalliques (ETM) ;
- le sol amendé par la boue et enrichie en ETM.

Les résultats montrent une capacité relativement élevée du phénanthrène à se fixer sur le sol limono-argileux. L'apport de boue ne modifie pas sensiblement la capacité de rétention du sol. En revanche, la présence d'ETM favorise l'adsorption du HAP. L'adsorption n'est pas totalement réversible (hystérèse de désorption) et la désorption est plus importante en présence d'ETM. Ces résultats s'expliquent par un probable changement de conformation de la matière organique du sol en présence d'ETM par la création de ponts cationiques, modifiant ainsi l'accessibilité des zones hydrophobes au phénanthrène susceptible de s'y fixer.

Dégradation et disponibilité du phénanthrène de la boue apportée au sol, en présence ou en absence de plante

Effet de la boue contaminée en phénanthrène sur l'activité minéralisatrice (ou dégradante) du sol

La boue B1 enrichie en phénanthrène marqué au ^{14}C a été ajoutée au sol à une dose équivalente à 6,25 t/ha ou à 4 fois cette dose (soit 25 t/ha). En comparaison, des quantités identiques de phénanthrène ont été apportées à des échantillons de sol en absence de boue. Dans les différents cas, les teneurs résultantes sont de 0,625 et 2,5 mg/kg de sol de phénanthrène.

Tous les sols ont été amenés à 80% de leur capacité de rétention en eau et placés dans des enceintes closes, obscures et thermostatées à 20°C, en présence d'un piège à CO_2 .

Périodiquement, pendant 60 jours, les résidus de phénanthrène ont été extraits des sols.

En parallèle, l'activité minéralisatrice globale du sol a été évaluée par dosage du CO_2 et la minéralisation du phénanthrène par le dosage du $^{14}\text{CO}_2$.

L'activité minéralisatrice générale de la microflore du sol se traduit par un dégagement de CO_2 qui est plus important, d'une part, en présence de boue et, d'autre part, lorsque les doses de boue ou de phénanthrène augmentent. L'apport de boue constitue un supplément de carbone disponible et se révèle être un accélérateur de l'activité microbienne. La présence de phénanthrène stimule également l'activité de la microflore. Il est possible que sa présence constitue un stress qui augmente l'activité microbienne ou que l'hydrocarbure provoque, par sa toxicité, la mort de certaines souches qui servent de substrat supplémentaire à celles qui ne sont pas sensibles.

L'activité dégradante spécifique vis-à-vis du phénanthrène donne lieu à un taux de minéralisation du polluant proche de 10% de la radioactivité introduite au bout de deux mois. La cinétique de minéralisation ne présente pas de phase de latence. La minéralisation du phénanthrène n'est statistiquement pas différente en présence ou en absence de boue, ni lorsque la dose d'apport est multipliée par 4.

Disponibilité du phénanthrène dans un sol après apport de boue, en présence ou absence de plante

L'espèce végétale cultivée est la moutarde blanche, *Sinapis alba*, plante d'interculture susceptible d'être implantée après un épandage de boue.

Des aliquotes du mélange sol-boue B1 enrichi ou non en phénanthrène marqué au ^{14}C ont été disposées dans des vases de végétation dont une moitié a été ensemencée avec des graines germées de *S. alba*. L'apport de boue a été équivalent à 25 t/ha. Les vases de végétation ont été placés en serre pour des durées de culture variant de 14 à 40 jours. L'humidité des terres a été maintenue à 80% de leur capacité de rétention.

Les résidus de phénanthrène ont été suivis au cours du temps.

Les quantités de résidus phénanthrène dans les plantes ont été mesurées par dosage du $^{14}\text{CO}_2$ produit lors de la combustion des végétaux.

Le développement végétatif n'est pas statistiquement différent, en présence ou non de phénanthrène. Il en est de même pour les biomasses aériennes et racinaires mesurées à la récolte.

Après 42 jours de culture de *S. alba* sur un sol ayant reçu une boue contaminée par du phénanthrène, il apparaît que près de la moitié du HAP reste extractible du sol et donc potentiellement disponibles pour les micro-organismes, les plantes ou l'eau. Moins d'un quart du produit est associé aux constituants du sol. Bien que 3% du phénanthrène soient retrouvés dans les plantes, la présence des végétaux ne modifie pas notablement les quantités de résidus extractibles et liés. Enfin, le bilan de la distribution de la radioactivité en fin d'expérience montre que près de 30% n'ont pas été retrouvés dans les

compartiments étudiés du système sol-boue-plante. Il peut s'agir de pertes au cours des extractions et analyses mais, également, de phénomènes de minéralisation et volatilisation, voies de dissipation non contrôlées dans ce dispositif.

Mobilité du phénanthrène dans un sol amendé par une boue d'épuration

La mobilité du phénanthrène a été étudiée à l'aide de dispositifs microlysimétriques placés sous conditions climatiques naturelles durant 3 mois. Les modalités comparées comportaient le sol seul ou amendé par la boue B1, éventuellement enrichie en ETM. Chaque colonne a reçu du phénanthrène marqué au ^{14}C puis les résidus de cet HAP ont été suivis dans les terres et les percolats au cours du temps.

Exportation du phénanthrène par les eaux de percolation

Une faible proportion du phénanthrène apporté est lessivée en 3 mois (2 à 3%). La majorité des résidus est exportée lors du premier épisode de percolation, survenu 10 jours après la mise en place, alors que les molécules de phénanthrène se trouvent majoritairement sous forme extractible. L'apport de boue semble accroître la mobilité du phénanthrène. Ceci pourrait être dû à un entraînement par la matière organique dissoute, issue de la boue. Cet effet n'est pas appréciable en présence d'ETM qui, augmentant l'adsorption, réduisent sa solubilisation.

Extractibilité des résidus de phénanthrène

La présence de boue ne semble pas avoir d'effet sur la disponibilité des résidus de phénanthrène pour une extraction. Cependant la présence d'ETM augmente significativement l'extractibilité du phénanthrène. L'effet des ETM est sans doute indirect. Les ETM interagissent avec la matière organique, rendant les sites d'adsorption plus accessibles tout en maintenant les résidus facilement extractibles, en raison d'interactions de faible énergie.

Dès le temps 0, les résidus non extractibles par les solvants utilisés représentent 20 à 25% de la quantité introduite. Trois mois plus tard, cette quantité atteint 29 à 43% du phénanthrène apporté. L'apport de boue ne modifie pas significativement les quantités non extractibles mais celui des ETM tend à les réduire. Ceci confirme le maintien dans un pool extractible des résidus de HAP retenu en présence de métaux.

Les résidus non retrouvés peuvent être fixés sur les matériaux expérimentaux, volatilisés ou, plus vraisemblablement, minéralisés. Nous avons, en effet, vérifié par ailleurs que le phénanthrène était moins dégradé en présence d'ETM et que la quantité minéralisée en 3 mois pouvait atteindre, dans un sol agricole biologiquement actif, 10 à 20% de la quantité introduite.

Effet des boues sur l'activité d'indicateurs microbiens

Les indicateurs biologiques considérés ici sont la *microflore des sols* dans son ensemble ou des *groupes fonctionnels* d'importance agronomique et les descripteurs utilisés concernent les caractéristiques de *taille*, *d'activité* et de *diversité*. Ces deux types de communauté microbienne se différencient par des compositions de peuplement et des niveaux d'interaction fonctionnelle différents auxquels correspondent différentes possibilités de réarrangements structuraux et de régulation en réponse à des stress chimiques. En première approche, nous avons choisi comme indicateur microbien la « microflore totale cultivable » d'un sol dont nous avons analysé, en cours d'incubation, l'évolution

des caractéristiques du polymorphisme de taille des intergènes ribosomiques (*ribosomal intergene space analysis*, RISA) (Rousseaux, 2000), de la diversité métabolique mesurée par la technique « biolog » (Garland et Mills, 1991) et de la diversité génétique déterminée par des profils RISA ou par une technique s'appuyant sur la séparation séquence-spécifique de fragments d'ADN (*terminal restriction fraction length polymorphism*, T-RFLP) (Rousseaux *et al.*, 2003).

Enfin, en raison de leur importance agronomique et environnementale, nous avons analysé des communautés microbiennes impliquées dans la dégradation de produits phytosanitaires.

Impact de l'apport de boues sur la minéralisation (dégradation) de pesticides par différents sols

Minéralisation de quatre pesticides dans un même sol

Le sol utilisé est à texture limono-argileuse (sol de Cîteaux, Côte-d'Or), les 3 herbicides (2,4-D, atrazine et diuron) et l'insecticide (carbofuran) ont été choisis en fonction de leur facilité à être minéralisés ou à être adsorbés. Les études ont porté sur des échantillons de sol amendés ou non par la boue B3 avec ou sans addition de HAP (phénanthrène, anthracène, fluoranthène, pyrène, benzo(a)pyrène). Les apports de boues sont réalisés à 2 doses, 6,25 et 100 t/ha de matière sèche.

Parallèlement, la taille de la population microbienne et sa diversité génétique ont été suivies.

Toutes les molécules étudiées se dégradent de façon relativement rapide dans le sol témoin. Cependant, deux cas de figure peuvent être observés. Dans le cas de l'atrazine et du 2,4-D, on n'observe pratiquement pas de différence dans la capacité du sol à dégrader ces deux herbicides, quelles que soient la dose d'apport et la nature des boues. Le 2,4-D, sous forme anionique dans le sol, a une faible tendance à s'adsorber. La présence de matière organique additionnelle ne semble donc pas limiter son accessibilité biologique. Le cas de l'atrazine est plus complexe dans la mesure où cette molécule présente une capacité certaine à se fixer sur les matières organiques ; si l'apport de boues se traduit par une adsorption additionnelle, celle-ci est réversible et sans conséquence sur l'accessibilité biologique de l'herbicide.

Par contre, dans le cas du carbofuran et du diuron, l'effet de la dose d'apport des boues sur la vitesse de minéralisation est déterminant, une augmentation de la dose entraînant toujours une réduction de la vitesse de minéralisation. Deux hypothèses alternatives peuvent être formulées pour expliquer ces résultats : celle d'une rétention relativement durable de ces molécules sur la matière organique apportée ou sur la biomasse néoformée ou celle d'une utilisation préférentielle de la matière organique apportée qui se ferait au détriment du pesticide. Les cinétiques de minéralisation du diuron après un second traitement sembleraient indiquer que c'est sa rétention sur la matière organique qui est le principal frein à sa dégradation dans le sol amendé.

Les résultats des dénombrements de la microflore bactérienne cultivable font clairement ressortir une augmentation initiale significative du polymorphisme de la taille des communautés microbiennes avec la dose d'apport des boues, ce même effet se reproduisant, bien que très atténué, avec la boue B3 et la boue B3 avec ajout de HAP. Après 1 mois, la régression de la microflore cultivable est générale et d'autant plus accentuée qu'elle avait été importante.

Les profils T-RFTL ne permettent pas de conclure quant à un effet des différents traitements des boues sur la diversité microbienne.

Minéralisation de deux pesticides dans différents sols

Les sols utilisés proviennent du site de la Bouzule et correspondent à la parcelle témoin « haute fertilisation » et aux parcelles ayant reçues des apports de boues B1, B3 et B3 avec ajout de HAP, à des doses de 30t/ha de matière sèche. Parallèlement, la biomasse microbienne après 15 et 80 jours a

été suivie par la technique de fumigation-extraction et par des profils RISA permettant d'évaluer la diversité génétique. Par ailleurs, la diversité métabolique des communautés microbiennes présentes a été mesurée dans les sols des parcelles ayant reçu les boues.

Les cinétiques de minéralisation de l'atrazine et du diuron en présence de boues brutes, compostées additionnées ou non de HAP indiquent une dégradation relativement lente dans le sol témoin. Ceci confirme que si l'apport de boues se traduit par une adsorption additionnelle, celle-ci est réversible et sans conséquence sur l'accessibilité biologique de l'atrazine ou du diuron.

Le traitement organique apporte un surcroît de biomasse de l'ordre de 35 mg/kg de sol de carbone pour la boue B1 et de 20 mg/kg de sol de carbone pour la boue B3, ce qui n'apparaît pas statistiquement significatif. Aucun effet significatif des HAP ajoutés à la boue B3 n'est observé.

Les profils RISA ne montrent pas de différence significative entre les différents traitements des sols. On touche là à une limite possible des approches basées sur les techniques de biologie moléculaire appliquées à l'étude des communautés microbiennes naturelles.

Les cinétiques de minéralisation de l'atrazine et du diuron dans le sol des parcelles traitées du dispositif expérimental de La Bouzule ne permettent pas de tirer des conclusions quant à un effet particulier des boues sur la vitesse de minéralisation de l'atrazine. Pour le diuron, on observe une tendance relativement nette vers une augmentation de l'ordre de 15% à 65 jours de la minéralisation de ce composé après traitement avec des boues STEP, fraîches ou compostées. Il y a lieu de remarquer que pour le traitement par la boue B1, la dispersion entre les blocs est extrême puisqu'on y retrouve le plus faible et le plus fort pourcentage de minéralisation.

L'évolution de la biomasse microbienne dans le sol des différentes parcelles montre clairement que, par rapport au sol de la parcelle témoin, l'accroissement lié à l'introduction des boues est significatif au seuil de 5%. On n'observe pas d'effet particulier lié à un type de boue ou à la présence de HAP.

Concernant la diversité métabolique, excepté pour le traitement avec la boue B3 enrichie en HAP, on peut globalement conclure que les autres traitements effectués sur les différentes parcelles du dispositif n'induisent pas de changements structuraux conduisant à une modification des capacités métaboliques de la microflore des sols.

Concernant la diversité génétique, il semble que les différents apports de boues entraînent une certaine simplification par rapport au sol de la parcelle témoin.

Effet du type de boue et de sol sur la dégradation de l'atrazine

La valeur fertilisante des boues, comme éventuels agents de biostimulation de la capacité de différents sols à dégrader l'atrazine, a été évaluée. Considérant la présence dans les boues d'autres composés organiques (type HAP) et éléments minéraux (type ETM), on a évalué les effets écotoxicologiques éventuels que leur présence pouvait générer au travers d'indices globaux basés sur le dénombrement et la mesure du carbone de la microflore totale et d'un indice d'activité, la dégradation de l'atrazine.

Des échantillons de 4 sols ont été utilisés, sols de Cîteaux, Dijon, Époisses (Côte-d'Or) et de La Bouzule, connus pour leurs capacités différentes à dégrader l'atrazine. Les boues utilisées sont la boue B2, B2 plus ajout de HAP, B2 plus ajout d'ETM (cadmium, cuivre, nickel, plomb et zinc), B3, B3 plus ajout de HAP, B3 plus ajout d'ETM. Parallèlement, on a effectué des dénombrements de la microflore totale ainsi que des mesures de la biomasse microbienne par fumigation-extraction. Enfin, on a déterminé les cinétiques d'adsorption de l'atrazine sur les différents mélanges sol-boues.

Dans les sols d'Époisses et de Cîteaux, à forte capacité de minéralisation de l'atrazine, on n'observe aucun effet significatif des boues.

Dans le sol de Dijon, d'une façon générale, les boues, quelles qu'elles soient, tendent à inhiber très légèrement la minéralisation de l'atrazine au moins pendant les 40 premiers jours. Au-delà, le phénomène s'inverse et les boues contribuent à prolonger l'activité de minéralisation, cet effet étant plus marqué avec les boues compostées. Les différences observées entre boues sont de faible ampleur et sans intérêt pratique. En ce qui concerne la minéralisation de la chaîne latérale $-\text{NH}(\text{C}_2\text{H}_5)^3$ de l'atrazine, le phénomène le plus marquant est un effet dépressif global de faible ampleur (moins de 10%) des boues compostées.

Dans le sol de La Bouzule, dont la capacité naturelle à dégrader l'atrazine est la plus faible, la minéralisation de l'hétérocycle de l'atrazine n'est que faiblement affectée par la présence de boues compostées ou non. Un effet plus important est observé pour la minéralisation de la chaîne latérale. Cet effet n'est pas modifié par la présence de HAP ou ETM ni par un compostage préalable de la boue.

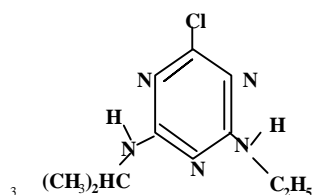
Les résultats des dénombrements montrent que l'apport de boues peut modifier de façon faible mais significative l'abondance des bactéries cultivables. De la même façon, la biomasse microbienne peut être significativement affectée par les différents traitements, mais jamais dans des proportions pouvant présenter un intérêt pratique évident.

Pour les sols de Cîteaux, Époisses et Dijon, aucune différence n'apparaît dans les cinétiques d'adsorption qui puisse s'expliquer par les apports de boues. Pour le sol de La Bouzule, on observe au contraire des différences importantes indiquant une capacité d'adsorption accrue en présence de boues par rapport au sol non amendé dont la capacité d'adsorption est naturellement faible. Par ailleurs, le compostage semble favoriser l'adsorption. Pour ce sol au moins, l'observation d'une tendance générale à une diminution de la minéralisation de l'atrazine en sol amendé pourrait s'expliquer par son adsorption accrue sur les matières organiques des boues

En conclusion

Parmi les composés traces organiques susceptibles d'être apportés par une boue de station d'épuration, les HAP sont parmi les plus difficiles à doser. La comparaison de différentes méthodes d'extraction a montré l'importance du choix du solvant. L'acétonitrile semble particulièrement efficace, surtout lorsque les HAP sont recherchés dans le sol.

La mobilité du phénanthrène apporté par une boue est différente selon les substrats, aussi bien par son adsorption sur le sol que par son transfert dans l'eau. L'ajout d'une boue à un sol ne modifie pas son adsorption ni sa désorption. En revanche, la présence d'ETM dans le sol, qui peuvent être simultanément apportés par la boue, semble rendre plus accessible la matière organique du sol au phénanthrène, probablement par modification de sa structure en présence d'ETM. Ces résultats ont pu être complétés par les expériences effectuées sur des microlysimètres sous conditions climatiques naturelles. Le phénanthrène, malgré sa faible solubilité, est transféré de manière significative dans les eaux de percolation dans tous les cas et reste davantage présent sous forme extractible par un solvant,



en présence d'ETM. Les ETM ne semblent cependant pas avoir d'effet sur sa concentration dans les eaux de percolation.

La minéralisation du phénanthrène n'est statistiquement pas différente en présence ou en absence de boue, même lorsque la dose d'apport est multipliée par 4.

En présence de la plante cultivée, le comportement du phénanthrène ne semble pas très différent. Le développement des plantes n'a pas transformé sensiblement la distribution des résidus dans le sol, bien que 3% du phénanthrène soit retrouvé dans les parties aériennes.

L'apport de boue de station d'épuration dans les sols ne semble pas contribuer de façon significative à renforcer le potentiel de dégradation de pesticides. Au contraire, une adsorption du pesticide sur la matière organique des boues pourrait diminuer son accessibilité biologique, limitant ainsi sa minéralisation, toujours dans des proportions relativement faibles.

Les différents indicateurs d'abondance (dénombrements, biomasse microbienne) ou de diversité génétique (T-RFLP ou RISA), ou métabolique (plaques Biolog) ont permis de mettre en évidence un effet significatif mais temporaire des boues sur la taille de la biomasse microbienne des sols mais n'ont pas permis de relier ces variations à des modifications structurales.

Ainsi donc, d'après les résultats obtenus ici, on ne peut pas mettre en avant de différences suffisamment pertinentes pour dire qu'à l'échelle du champ, l'apport de boues a un impact sur la dégradation et la migration de composés traces organiques dans les sols agricoles. En revanche, nous pouvons conclure que la présence d'ETM peut influencer, de manière non négligeable, leur disponibilité dans le sol ■

Références bibliographiques

- GARLAND J.L., MILLS A.L., 1991. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level-sole-carbon-source utilization. *Applied and Environmental Microbiology*, 57, 2351-2359.
- ROUSSEAU S., 2000. *Diversité taxonomique, génotypique et physiologique des souches bactériennes dégradant l'atrazine dans les sols*. Thèse de doctorat de l'université de Bourgogne, Dijon, 150 p.

- ROUSSEAU S., HARTMANN A., ROUARD N., SOULAS G., 2003. A simplified procedure for terminal restriction fragment length polymorphism analyses of the soil bacterial community to study the effect of pesticide on the soil microflora using 4, 6-dinitroorthocresol as a test case. *Biology and Fertility of Soils*, 37(4), 250-254.

