

## Bulletin BSA/VBB n° 10 / novembre 2006

---

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1. Rapport annuel de la présidente .....</b>  | <b>1</b>  |
| <b>2. Activités de groupes de projets</b>  |           |
| 2.1. Groupe de projet « Échange de connaissances et sensibilisation du public » .....  | 4         |
| 2.2. Groupe de projet « Microbiologie » .....  | 4         |
| 2.3. Groupe de projet « Mycorizes » .....  | 4         |
| 2.4. Groupe de projet « Faune » .....  | 5         |
| 2.5. Groupe de projet « Observation à long terme » .....   | 5         |
| <b>3. Projets choisis du BSA.....</b>  | <b>6</b>  |
| 3.1. Projet pilote « Observation à long terme de propriétés physiques et biologiques du sol (LAZBO) – résultats des tests pédomicrobiologiques » ..... | 6         |
| 3.2. Effets à court et à long terme de produits phytosanitaires sur la qualité biologique du sol lors d'une rotation.....                              | 8         |
| 3.3. Biologie du sol après 10 ans de semis direct ou de labour .....   | 12        |
| <b>4. Forum .....</b>  | <b>16</b> |
| 4.1. Méthodes d'écologie moléculaire microbienne appliquées à la détermination de la diversité microbienne dans les sols.....                          | 16        |

### 1. Rapport de la présidente

*Françoise Okopnik, Abt. für Umwelt, Sektion Boden und Wasser, Aarau*

L'an passé, la Suisse a encore perdu 26 490 240 mètres carrés de sol au profit de constructions. Durant cette même période, l'épaisseur moyenne du sol en place a augmenté d'un millimètre par la pédogenèse, pour autant que l'érosion n'en ait pas emporté 2 millimètres. D'un autre côté, quelques sites d'extraction de matériaux sont remis en culture chaque année, tout comme quelques surfaces de bâtiments et chemins ruraux inutilisés.

Outre la disparition de sol naturel et la perte totale de fertilité qu'elle implique, cette dernière

est également menacée par des polluants et des atteintes mécaniques.

Un large public est sensibilisé aux atteintes à la fertilité des sols par des polluants, car c'est l'homme qui est touché en fin de compte. Quant aux atteintes mécaniques, elles sont visibles tous les automnes et tous les printemps, lorsque l'eau ne peut plus s'infiltrer dans le sol par suite de compactations et qu'elle laisse de grandes « mouilles » dans les champs. En revanche, les atteintes biologiques sont moins visibles. La recherche s'attache à évaluer les risques que des organismes pathogènes, invasifs ou génétiquement modifiés signifient pour la fertilité des sols. Il est d'autant plus important de savoir reconnaître l'état d'un sol biologiquement sain. C'est la raison pour laquelle le Groupe de travail BSA travaille intensément à élaborer des plages de référence de données sur les sols sains. Mais jusqu'ici, aucune n'a pu être définie pour les divers paramètres biologiques étudiés, car la question centrale de savoir quelles méthodes peuvent être reconnues comme standard et aboutir aux mêmes conclusions n'a pas encore été clarifiée.

Il n'empêche qu'un autre canton a repris des paramètres de biologie du sol dans le programme d'analyses de son KABO (réseau cantonal d'observation des sols). En 2005, le canton d'Argovie a lancé un projet pilote sur cinq sites. Le laboratoire du service cantonal de la protection des sols a introduit la méthode de référence « respiration du sol » dans son programme. De sorte que trois cantons (Berne, Fribourg et Argovie) mènent désormais des investigations à long terme sur la biologie du sol.

L'année dernière, le BSA a aussi organisé deux séances d'une journée avec des invités des milieux universitaires. Geneviève Défago a présenté un compte rendu sur les « sols à effet suppressif et leur application dans le contrôle biologique de phytopathogènes du sol ».

Lors de la deuxième rencontre, Franco Widmer (Station de recherche Agroscope Reckenholz-Tänikon ART) a présenté un exposé consacré aux « méthodes de biologie moléculaire appliquées à la détermination de la diversité microbienne dans les sols » (voir forum dans ce bulletin).

Pour son 10<sup>e</sup> anniversaire, le Groupe de travail BSA est parti visiter une exposition de champignons au Muséum d'histoire naturelle de Berne. Tous les participants ont été enthousiasmés par les moulages plus vrais que nature fabriqués par l'entreprise de modélisme L. L. Wechsler à Brême. L'après-midi a été consacré à une excursion très instructive dans la réserve mycologique de « La Chanéaz », à Montagny-les-Monts (FR). Je saisis cette occasion pour remercier Claudia Maurer-Troxler et Simon Egli de la parfaite organisation de cette balade.

Les groupes de projets ont aussi accompli un précieux travail. Le groupe « Sensibilisation du public » a défini les planificateurs et les architectes comme nouveau groupe cible. Il a en outre accompagné le projet « Von Bauern – für Bauern », dont les travaux ont beaucoup progressé. Le groupe « Microbiologie » coordonne un projet consacré aux effets de la dissémination de microorganismes sur les organismes du sol. Le groupe de travail « Mycorhizes » a mené une étude pilote à l'aide de la méthode de référence « Potentiel infectieux des mycorhizes ». Le groupe « Observation de longue durée » s'est intéressé à la problématique de l'acidification des sols forestiers, tout en continuant d'encadrer le projet LAZBO.

Le groupe de travail BSA offre depuis 10 ans une possibilité d'échanges très actifs entre la recherche et les responsables de l'application. Il a pu lancer et mener à bien des projets extrêmement variés. Et de nouveaux thèmes attendent d'être traités. J'espère donc que cette collaboration fructueuse se poursuivra de longues années encore.

## **Impressum Bulletin BSA/VBB n° 10/2006**

### *Éditeur*

Groupe de travail «Biologie du sol – application»

Le groupe de travail BSA/VBB a été fondé en 1995 à l'initiative des services cantonaux de la protection des sols et de l'Office fédéral de l'environnement (OFEV). Il traite essentiellement d'aspects de la biologie du sol en rapport avec la protection des sols et la conservation de leur fertilité dans le cadre de l'application de l'ordonnance sur les atteintes portées aux sols (OSol).

### *Présidence depuis 2005*

Françoise Okopnik  
Abt. für Umwelt  
Sektion Boden und Wasser  
Entfelderstrasse 22  
Buchenhof  
CH – 5001 Aarau  
Tél. 062 835 34 08  
E-mail: [francoise.okopnik@ag.ch](mailto:francoise.okopnik@ag.ch)

### *Secrétariat et commandes*

Paul Mäder  
Institut de recherche de l'agriculture biologique (FiBL)  
Ackerstrasse  
Case postale  
CH – 5070 Frick  
Tél. 062 865 72 32  
Fax. 062 865 72 73  
E-mail: [paul.maeder@fibl.org](mailto:paul.maeder@fibl.org)

Le Bulletin est également disponible sur Internet: [http://www.environnement-suisse.ch/buwal/fr/fachgebiete/fg\\_boden/themen/bodenbiologie/index.html](http://www.environnement-suisse.ch/buwal/fr/fachgebiete/fg_boden/themen/bodenbiologie/index.html)

**Groupes de projets rattachés au groupe de travail «Biologie du sol - application»  
juillet 2006**

| Nom du groupe et thèmes abordés   | Membres  | Personne de contact  |
|---|--|--|
| <b>Échange de connaissances et sensibilisation du public</b>  |  |  |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- Informer et sensibiliser le public aux questions se rapportant à la biologie du sol</li> <li>- Échanger expériences et connaissances</li> </ul>  | R. Bono (BL)<br>J. Burri (LU)<br>C. Maurer-Troxler (BE)<br>F. Okopnik (AG)<br>C. Kündig (BE)<br>R. von Arx (BAFU)<br>G. von Rohr (SO)<br>T. Wegelin (ZH) | Roland von Arx<br>OFEV<br>CH-3003 Berne<br>Tél. 031 322 93 37<br><a href="mailto:roland.vonarx@bafu.admin.ch">roland.vonarx@bafu.admin.ch</a>  |
| <b>Microbiologie</b>  |  |  |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- Élaborer et valider des stratégies d'échantillonnage (prairies, terres ouvertes, forêts)</li> <li>- Choisir, standardiser et valider des méthodes</li> <li>- Documenter la variabilité dans le temps et dans l'espace</li> <li>- Réaliser des études pilotes sur le recensement des atteintes concrètes</li> </ul> | W. Heller (ACW)<br>A. Fliessbach (FiBL)<br>E. Laczko (Solvit)<br>P. Mäder (FiBL)<br>H.-R. Oberholzer (ART)   | Hans-Rudolf Oberholzer<br>Station de recherche Agroscope<br>Reckenholz-Tänikon ART<br>Reckenholzstrasse 191<br>CH-8046 Zurich<br>Tél. 01 377 72 97<br><a href="mailto:hansrudolf.oberholzer@art.admin.ch">hansrudolf.oberholzer@art.admin.ch</a> |
| <b>Mycorhizes</b>   |  |  |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- Élaborer et valider des méthodes standard pour décrire l'état d'un sol sur le plan des mycorhizes</li> </ul>   | S. Egli (WSL)<br>J. Jansa (ETH)<br>C. Maurer-Troxler (BE)<br>P. Mäder (FiBL)   | Simon Egli<br>WSL<br>Zürcherstrasse 111<br>CH-8903 Birmensdorf<br>Tél. 01 739 22 71<br><a href="mailto:simon.egli@wsl.ch">simon.egli@wsl.ch</a>  |
| <b>Faune</b>  |  |  |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- Évaluer et standardiser des méthodes de recensement des animaux du sol et les tester par des études de cas</li> </ul> <p>Le groupe est suspendu</p>  | S. Keller (ART)<br>C. Maurer-Troxler (BE)<br>L. Pfiffner (FiBL)  | Claudia Maurer-Troxler<br>Amt für Landwirtschaft und Natur des Kantons Bern, Rütli<br>CH-3052 Zollikofen<br>Tél. 031 910 53 33<br><a href="mailto:claudia.maurer@vol.be.ch">claudia.maurer@vol.be.ch</a>   |
| <b>Observation de longue durée</b>  |  |  |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- Coordonner des essais de biologie du sol dans le cadre du réseau cantonal d'observation des sols</li> <li>- Réaliser des essais pilotes d'observation à long terme (en collaboration avec le projet ART)</li> </ul>  | H. Brunner (ART)<br>U. Gasser (ZH)<br>C. Maurer-Troxler (BE)<br>H.-R. Oberholzer (ART)<br>F. Okopnik (AG)<br>G. Schmid (SG)<br>P. Schwab (ART)           | Claudia Maurer-Troxler<br>Office de l'agriculture et de la nature du canton de Berne, Rütli<br>CH-3052 Zollikofen<br>Tél. 031 910 53 33<br><a href="mailto:claudia.maurer@vol.be.ch">claudia.maurer@vol.be.ch</a>                                |

## 2. Activités des groupes de projets

### 2.1. Groupe de projet « Échange de connaissances et sensibilisation du public »

*Roland von Arx, OFEV*

La plate-forme « KMSoil », accessible par Internet, sert depuis environ deux ans à l'échange de connaissances entre les services de la protection des sols. Le groupe de projet l'a régulièrement adaptée aux besoins et optimisée sur la base des expériences réalisées.

Depuis 2001, le site « [Regenwurm.ch](http://Regenwurm.ch) » est à la disposition des parents et des enfants de tous âges qui souhaitent s'informer de façon ludique sur les vers de terre et le sol. Il remporte toujours un vif succès. Le groupe de projet est en train de l'actualiser et de le compléter afin de contribuer à une meilleure compréhension et valorisation de cette thématique.

Le projet « Von Bauern für Bauern » (De paysan à paysan) entend vulgariser à l'aide de vidéos les expériences de paysannes et de paysans dans le domaine de la conservation et de la restauration de la fertilité des sols. La phase principale, qui a démarré en 2004, comprend la conception et la production de cinq modules vidéo:

1. Travail du sol : vers l'abandon de la charrue
2. Semis sous mulch
3. Semis en bandes fraisées
4. Semis direct
5. Entretien du sol à l'aide de compost et d'engrais verts

Le projet est soutenu par de nombreuses institutions : Office fédéral de l'agriculture (OFAG), Office fédéral de l'environnement (OFEV), services de l'agriculture et de la protection des sols des cantons et de la Principauté du Lichtenstein, Sophie und Karl Binding Stiftung, IP Suisse et Bio Suisse, Union suisse des paysans (USP), Association suisse pour l'équipement technique de l'agriculture (ASETA), et AGRIDEA.

Grâce à de bonnes conditions météorologiques, trois vidéos ont été tournées en 2005. Les prises de vue pour les deux dernières ont été réalisées au printemps 2006.

La deuxième partie de la phase principale – la diffusion des modules vidéo dans des réseaux paysans – a débuté à mi-2006. Il s'agit de présenter les vidéos sous une forme appropriée dans des organisations et lors de manifestations agricoles, dans le but de déclencher des processus d'apprentissage. À l'issue du projet, le principe de la campagne « De paysan à paysan » devrait être connu de tous et pouvoir être appliqué à d'autres domaines.

Le groupe a déjà réussi à atteindre un large public cible avec ses projets. Il estime que des progrès restent à faire dans le secteur de la construction (architectes, planificateurs et chefs de chantiers). Le groupe examine la possibilité de mener une campagne d'information conjointe avec la SIA. La problématique de la protection des sols pourrait être présentée avec la norme remaniée SIA 318 à l'occasion d'apéritifs professionnels.

### 2.2. Groupe de projet « Microbiologie »

*Hans-Rudolf Oberholzer,  
Station de recherche Agroscope Reckenholz-  
Tänikon ART*

Au cours de l'année, notre groupe a coordonné un projet consacré aux conséquences de l'introduction d'organismes sur les biocénoses du sol et leurs fonctions. Des analyses microbiologiques ont été menées à l'ART dans le cadre d'un essai de plein champ avec apports de « micro-organismes effectifs ». Le FiBL a étudié les effets de la dissémination de pseudomonades, une préparation de bactéries de *Pseudomonas* utilisée dans le contrôle biologique de certaines maladies du sol. Ce projet s'achèvera en 2007 avec la formulation de recommandations méthodologiques sur la détermination des effets secondaires d'organismes disséminés dans le sol. Nos capacités de travail étant limitées, nous n'avons pas pu aborder d'autres thèmes.

### 2.3. Groupe de projet « Mycorhizes »

*Simon Egli, WSL Birmensdorf*

L'essai pilote « potentiel infectieux des mycorhizes » a été lancé au printemps 2005 dans le but d'évaluer l'adéquation de cette méthode microbiologique standardisée à l'observation à long terme. Six cantons ont participé à l'étude et

mis à disposition 20 sols, la plupart issus des réseaux cantonaux ou du réseau national d'observation des sols. L'évaluation de l'essai a montré que le potentiel infectieux des mycorhizes pouvait fortement varier suivant les sols. La colonisation des racines va de 35 % dans le pire des cas à 91 % dans le meilleur. Malheureusement, les plages de référence pour ce paramètre font encore largement défaut et il est difficile d'interpréter les résultats pour le moment. La prochaine étape consistera à comparer les résultats de cet essai avec d'autres données pédologiques relevées sur les surfaces. Et nous aurons naturellement encore besoin d'autres résultats d'analyse du potentiel infectieux des mycorhizes pour parvenir à définir des plages de référence. C'est pourquoi nous aimerions encourager les cantons à utiliser cette méthode dans le cadre de l'application.

#### 2.4. Groupe de projet « Faune »

*Claudia Maurer-Troxler  
Office de l'agriculture et de la nature du canton de Berne*

Ce groupe n'a pas eu de nouvelles activités en 2005. Il est suspendu jusqu'à nouvel avis car il manque de capacités.

#### 2.5. Groupe de projet « Observation de longue durée »

*Claudia Maurer-Troxler, Office de l'agriculture et de la nature du canton de Berne*

*Peter Schwab,  
Direction du projet LAZBO, FB14.2 (NABO) ART*

Le groupe « Observation de longue durée » travaille sur trois projets:

- Utilisation de paramètres biologiques et physiques dans l'observation à long terme (LAZBO)
- Utilisation de paramètres biologiques dans le réseau national d'observation des sols (NABO-Bio)
- Sols forestiers

Afin de combler l'absence de bases méthodologiques pour l'observation à long terme des propriétés physiques et biologiques des sols, la station de recherche Reckenholz-Tänikon ART a lancé dans le cadre de son programme de travail 2000-2003 un projet intitulé « **Observation à long terme des propriétés physiques**

**et biologiques du sol** ». Le projet global, étalé sur six ans, a débuté en 2001. La phase préparatoire (2001-2003, projet pilote LAZBO) a consisté à étudier et évaluer l'adéquation des méthodes d'analyse et de prélèvement disponibles pour l'observation à long terme de propriétés pédophysiques et pédobiologiques.

Le rapport final de cette première phase est publié depuis mai 2006 sur [www.nabo.admin.ch](http://www.nabo.admin.ch). Il se subdivise comme suit:

- Résumé
- 1<sup>re</sup> partie : Introduction et principes
- 2<sup>e</sup> partie : Tests pédophysiques
- 3<sup>e</sup> partie : Tests pédomicrobiologiques
- 4<sup>e</sup> partie : Conclusions, recommandations et perspectives.

La phase test du LAZBO (2003-2006), qui fait suite à la phase préparatoire, vise d'une part à vérifier les résultats obtenus, d'autre part à élargir la base de données existante par l'analyse des propriétés pédophysiques et pédobiologiques pendant trois années de relevés supplémentaires. C'est à partir de cette base de données élargie que sera développée la procédure méthodologique pour évaluer les fluctuations dans le temps des propriétés du sol lors d'une observation à long terme.

Dans le cadre du projet NABO-Bio, les paramètres microbiologiques de la respiration du sol et de la biomasse microbienne (méthode SIR) sont analysés jusqu'en 2006 sur 60 sites sélectionnés du NABO.

S'agissant du projet « sols forestiers », les cantons d'AG, BE, SG et ZH analysent ensemble les données de leurs KABO concernant les sols forestiers. Ces travaux doivent déboucher sur une fiche qui contiendra une partie spécifique au canton (les paramètres et données relevés varient suivant les cantons), et une partie commune consacrée en particulier au thème de l'acidification des sols. La suite des travaux constituera également un élément important de cette partie commune: à l'avenir, les quatre cantons prévoient de se concerter sur le choix des paramètres et des sites. Le groupe va consulter à cet effet les spécialistes du WSL et de l'IAP (Institut für angewandte Pflanzenbiologie), notamment en ce qui concerne le choix des paramètres.



### 3. Projets choisis du BSA

#### 3.1. Projet pilote « Observation à long terme de propriétés physiques et biologiques du sol (LAZBO) – résultats des tests pédomicrobiologiques

*Hans-Rudolf Oberholzer, Susanne Scheid,  
Peter Schwab*  
Station de recherche Agroscope Reckenholz-  
Tänikon ART  
Reckenholzstrasse 191  
CH-8046 Zurich  
Tél. 01 377 72 97  
[hansrudolf.oberholzer@art.admin.ch](mailto:hansrudolf.oberholzer@art.admin.ch)

L'observation à long terme déjà en place dans le cadre de l'Observation nationale des sols (NABO) se limite jusqu'ici à la pollution chimique des sols par des substances inorganiques et organiques. Cette situation a deux origines: d'une part, les bases légales (OSol, 1986), qui ne portaient au début que sur les polluants chimiques, d'autre part, le manque de méthodes validées et d'expérience pratique en ce qui concerne la détermination à long terme des paramètres pédophysiques et pédobiologiques. Depuis la révision de la loi sur la protection de l'environnement (LPE, 1983) et la nouvelle ordonnance sur les atteintes portées au sol (OSol, 1998), l'observation à long terme des propriétés physiques et biologiques du sol fait également partie des tâches des autorités. Le projet FAL, qui s'intitule « Observation à long terme des propriétés physiques et biologiques du sol – projet pilote LAZBO » (numéro de projet FAL 00.14.2.2), est une analyse de faisabilité destinée à déterminer si les études pédophysiques et pédobiologiques peuvent convenir à l'observation à long terme. Elle a été menée de 2001 à 2003.

Pour les tests microbiologiques, des échantillons ont été prélevés chaque année au printemps sur trois parcelles de grandes cultures et trois prairies sur une surface de 10 x 10 m selon la méthode appliquée par le NABO. Quatre échantillons composés (correspond à quatre observations) ont été prélevés par surface. Chaque échantillon composé a été analysé quatre fois en laboratoire (correspond à une analyse). Les paramètres choisis sont ceux qui ont été recommandés comme paramètres de base à la fois par le groupe de travail « Biologie du sol - application » (BSA/VBB) en Suisse, et par

d'autres groupes européens. Il s'agit de la biomasse microbienne, déterminée avec les méthodes de « respiration induite par le substrat » (SIR) et d'« extraction par fumigation au chloroforme » (FE), de la respiration du sol (respiration basale) ainsi que de la minéralisation de l'azote par incubation aérobie. La validation s'est faite à partir des critères auxquels doit répondre un système de surveillance des sols: (1) stabilité référentielle, (2) exactitude de l'analyse, (3) exactitude des relevés, (4) fluctuations dans le temps des propriétés du sol sur le terrain et enfin (5) pertinence. Pour évaluer la stabilité référentielle et les fluctuations dans le temps, les chercheurs ont comparé les résultats d'échantillons frais avec ceux d'échantillons d'archive congelés (ces échantillons ont été congelés à -20°C après leur préparation et évalués à différentes périodes après leur décongélation).

Les résultats relatifs à la stabilité référentielle varient d'un paramètre pédomicrobiologique à l'autre. Par rapport à la biomasse microbienne (méthode SIR), pour laquelle la valeur moyenne annuelle d'une observation (= 1 échantillon composé) ne s'écarte pas de plus de 5 % de la valeur moyenne des trois années de test, la stabilité référentielle de la respiration du sol peut être considérée comme relativement bonne puisqu'elle affiche un écart maximum de 10 %. Cela vaut également pour la minéralisation de l'azote. Par contre, il n'est pas possible de tirer de conclusions définitives sur la stabilité référentielle du paramètre pédomicrobiologique, biomasse microbienne (méthode FE), car les résultats des analyses sont contradictoires. D'après les expériences réunies dans le cadre du projet pilote LAZBO, il est recommandé de tester régulièrement la stabilité des échantillons de référence sur des intervalles de temps assez courts. Dans le cadre de l'observation à long terme, la stabilité référentielle des méthodes d'analyse est capitale.

Pour les paramètres pédomicrobiologiques étudiés, la précision d'analyse est bonne. Hormis pour le paramètre de minéralisation de l'azote, les coefficients de variation des analyses répétées quatre fois par observation (échantillon composé) sont inférieurs à 5 % en laboratoire. Pour le paramètre de minéralisation de l'azote, le coefficient de variation est de 8 %. L'amplitude de variation de ces coefficients qui représente un autre moyen d'évaluer la précision d'une méthode, montre que 75 % de tous les

coefficients de variation sont inférieurs à 5 %. Seules très peu d'observations affichent des coefficients de variation > 10 %. La comparaison entre les échantillons frais et les échantillons congelés montre que les risques de coefficients de variation plus élevés augmentent avec la congélation et la décongélation des échantillons. On devrait donc renoncer si possible à congeler des échantillons.

Comparés à la précision de l'analyse, les résultats relatifs à la précision des relevés montrent que la variabilité entre les quatre observations (= 4 échantillons composés) est supérieure. Là aussi, la comparaison entre les échantillons frais et les échantillons congelés indique que les coefficients de variation des échantillons congelés sont plus élevés. Le paramètre biomasse microbienne (méthode SIR) fait exception. Il affiche en effet une amplitude de variation moyenne < 5 %, que les échantillons soient frais ou congelés. Les résultats montrent que les quatre observations prévues et les paramètres pédomicrobiologiques sélectionnés permettent de décrire avec précision la surface étudiée. En vue d'optimiser les coûts, il est possible, sans que la précision des relevés en soit pénalisée, de combiner trois observations et de ne faire que deux ou trois analyses répétées par observation (= 1 échantillon composé) en laboratoire.

En ce qui concerne les fluctuations dans le temps des propriétés du sol sur le terrain, les résultats ne permettent d'identifier que peu de concordances, et quasiment aucune régularité entre les différentes méthodes et les paramètres pédomicrobiologiques lorsqu'on compare les évolutions. La biomasse microbienne BM (SIR) fait exception. On peut en effet observer une concordance relativement bonne de l'évolution des courbes dans le temps pour tous les sites étudiés. Pour les autres paramètres pédomicrobiologiques, l'évolution des courbes indique une faible concordance. Les courbes sont en effet marquées par de nombreuses déviations et fluctuations. Ces dernières sont peut-être dues au fait que certains facteurs étaient mal connus lors de la préparation des échantillons.

Pour évaluer les valeurs mesurées et leurs fluctuations dans le temps, il est important de les comparer avec une valeur de référence présumée. Pour le moment, seul le paramètre pédomicrobiologique de la biomasse microbienne (méthode SIR) dispose d'un modèle de réf-

rence qui permet d'indiquer les valeurs de mesure non pas comme des valeurs absolues, mais comme des valeurs relatives par rapport à une valeur de référence typique du site étudié. L'analyse des données de la biomasse microbienne (méthode SIR) à l'aide du modèle de référence n'indique une fluctuation significative dans le temps entre les relevés annuels que sur un site de grandes cultures.

Globalement, les résultats montrent que le paramètre pédomicrobiologique de la biomasse microbienne (méthode SIR) convient pour l'observation à long terme, en relation avec tous les critères étudiés. Les autres paramètres présentent des inconvénients par rapport à certains critères et ne peuvent pour l'instant pas encore être recommandés pour une observation à long terme.

Le projet pilote LAZBO a permis d'atteindre les objectifs suivants:

- Les chercheurs ont pu estimer la précision et la justesse des méthodes d'analyse pour les paramètres pédophysiques et pédobiologiques sélectionnés et les quantifier.
- La stratégie d'échantillonnage, d'archivage et d'analyse développée et testée permet d'effectuer des études dont la stabilité référentielle est garantie sur de longues périodes, au moins sur trois ans
- L'influence des prélèvements, de l'archivage et de la préparation sur les valeurs de mesures peut être contrôlée en procédant à des étalonnages et peut être minimisée en standardisant la procédure.
- Des modèles statistiques ont été introduits pour l'analyse de séries chronologiques. Ils permettent d'enregistrer les valeurs moyennes des sites et les bruits de fonds des propriétés physiques et biologiques des sols sur de longues périodes
- La commodité et le coût des relevés pédophysiques et pédobiologiques ont pu être quantifiés sur la base de trois années de relevés.

Le projet pilote LAZBO a montré que les propriétés microbiologiques des sols pouvaient être

déterminées sur de longues périodes de manière précise et stable lorsqu'on employait les méthodes d'analyse et les plans de prélèvement appropriés. Le projet pilote et la phase de test LAZBO (2004-2006) fourniront les bases méthodologiques pour une observation à long terme des propriétés microbiologiques (NABO-bio) du sol. En tant que système de surveillance, l'observation à long terme de paramètres pédobiologiques contribue de manière décisive à enregistrer les impacts de atteintes chimiques, physiques et biologiques subies par le sol. En prévision d'une observation à long terme et de sa planification, il est indispensable de définir auparavant les propriétés ou fonctions du sol à observer et les objectifs du NABObio. Les objectifs potentiels pourraient être les suivants: (1) observation de l'influence des pollutions diffuses, (2) observation des sites sur lesquels on soupçonne des pollutions physiques ou chimiques spécifiques, concrètes (élevées) ou (3) observation de l'influence du mode d'exploitation agricole (forestier) ou même de l'exploitation des zones de loisirs. Le choix de sites et également celui des paramètres, notamment des paramètres d'accompagnement et éventuellement des paramètres chimiques et physiques nécessaires (pH, C<sub>org</sub>, granulométrie), les plus aisés à relever, dépendront des objectifs définis.

Ces aspects laissent poindre une autre idée: la future observation à long terme des paramètres pédobiologiques pourrait ne plus être seulement un complément au programme national d'observation des sols, comblant ainsi une lacune importante dans la législation suisse sur la protection de l'environnement, mais pourrait aborder les problèmes urgents de protection biologique des sols, jouant un rôle de pionnier au-delà des frontières de la Suisse.

Les rapports complets du projet pilote LAZBO (bibliographie n° 142-146) sont disponibles en fichier pdf sur [http://www.environnement-suisse.ch/buwal/fr/fachgebiete/fg\\_boden/nabo/bibliographie/index.html](http://www.environnement-suisse.ch/buwal/fr/fachgebiete/fg_boden/nabo/bibliographie/index.html).

### **3.2. Effets à court et à long terme de produits phytosanitaires sur la qualité biologique du sol lors d'une rotation**

*Andreas Fließbach et Paul Mäder*  
*Institut de recherche de l'agriculture biologique (FiBL), Ackerstrasse*  
*CH-5070 Frick*  
*Tél. 062 865 72 25*  
[andreas.fliessbach@fibl.org](mailto:andreas.fliessbach@fibl.org)

Les pesticides sont employés en agriculture pour protéger les cultures contre des maladies et des ravageurs (but préventif) ou pour lutter contre ceux-ci (but curatif). D'autres servent à éliminer sélectivement des adventices ou à détruire les plantes cultivées au terme de la période de végétation. Les quantités de pesticides utilisées en Suisse ont diminué de 43 % entre 1987 et 2004 (source: Société Suisse des Industries Chimiques). Cette réduction s'explique d'abord par la diminution des doses d'application des pesticides modernes, et ensuite par leur utilisation ciblée en production intégrée (PI).

Les dégâts éventuels que les pesticides peuvent causer aux organismes du sol font partie des recherches que le fabricant doit effectuer lors de la procédure d'homologation. Mais en général, ces contrôles portent uniquement sur les effets de certains produits ou matières actives, et non sur leurs répercussions lors d'utilisations combinées ou de séries de traitements. Des tests standard destinés au contrôle des effets secondaires des pesticides sont disponibles pour certains organismes (vers de terre, algues, oiseaux, poissons) et ont été introduits (OCDE 1993); mais lors de la procédure d'homologation, l'examen de restrictions d'utilisation n'est exigé que pour les pesticides potentiellement dangereux. La plupart du temps, les risques d'interactions et d'effets combinés ne sont pas pris en considération. Cela explique pourquoi les essais consacrés aux effets cumulés ou combinés de pesticides sur des organismes non visés sont rares. Une étude sur les effets de deux successions de traitements dans des cultures de pommes de terre avait déjà été réalisée en conditions contrôlées (Fließbach et al., 2003; Fließbach et Mäder, 2004). Elle a servi de base à un essai de plein champ entrepris en 2002 sur un terrain de grandes cultures d'une exploitation agricole pratiquant depuis huit ans la culture biologique (fig. 1). Sur ce terrain loué par le FiBL, un essai a été mis en place sur 16 parcelles réparties en quatre méthodes de traitement



(contrôle non traité, biologique (bio), production intégrée réduite (PI1), production intégrée intensive (PI2)), avec quatre répétitions. La rotation a débuté la première année par des pommes de terre, suivies de blé d'hiver, de colza, d'un mélange trèfle-graminées comme culture inter-

calaire, et de maïs d'ensilage. La fumure et la préparation du sol ont été réalisées selon les méthodes habituelles de l'exploitation, sans distinction entre les parcelles.

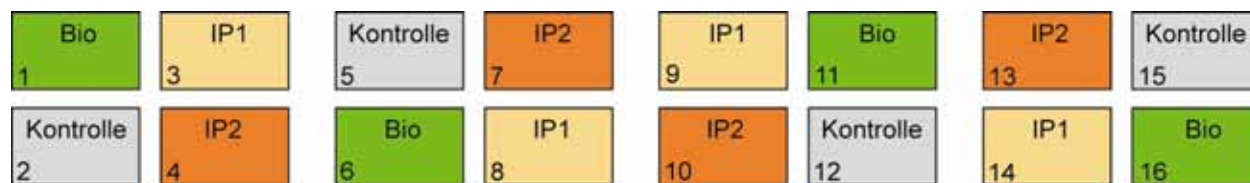


Fig. 1. Répartition des parcelles de l'essai de pesticides à Full-Reuenthal

Des échantillons de sol ont été prélevés à des profondeurs de 0 à 10 cm et de 10 à 20 cm, 10 jours et 100 jours après le dernier traitement d'une culture ou de la saison. Les analyses suivantes ont été faites : biomasse microbienne, respiration basale, activité déshydrogénase et modèle de dégradation du substrat déterminé selon la méthode Biolog™ Ecoplates.

Tableau 1: Quantité de matière active de pesticides et fréquence d'utilisation dans les trois procédures traitées de l'essai de pesticide à Full-Reuenthal

| Culture         | Utilisation         | Bio | IP1  | IP2  |
|-----------------|---------------------|-----|------|------|
| Pomme de terre  | kg ha <sup>-1</sup> | 3,7 | 13,2 | 18,2 |
|                 | Fréquence           | 9   | 12   | 12   |
| Blé d'hiver     | kg ha <sup>-1</sup> | 0,0 | 2,4  | 2,5  |
|                 | Fréquence           | 0   | 2    | 3    |
| Colza d'hiver   | kg ha <sup>-1</sup> | 0,0 | 1,4  | 2,6  |
|                 | Fréquence           | 0   | 3    | 8    |
| Maïs d'ensilage | kg ha <sup>-1</sup> | 0,0 | 0,6  | 1,0  |
|                 | Fréquence           | 0   | 1    | 1    |
| Rotation        | kg ha <sup>-1</sup> | 3,7 | 17,6 | 24,3 |
|                 | Fréquence           | 9   | 18   | 24   |

La composition de chaque série de traitements a été discutée et fixée avec des spécialistes des stations de recherche Agroscope Reckenholz-Tänikon ART et LBL-Lindau. La série de traitements Bio n'a différé du témoin que la première année (les pommes de terre ont été traitées avec un produit cuprique). Dans les cultures de pommes de terre, la seule différence entre PI1 et PI2 était le défendant utilisé (Basta en PI1 et Dinosèbe en PI2). Pour les cultures suivantes, PI1 était assimilable à une variante « extenso », et PI2 a reçu tous les pesticides recommandés.

Nous remercions les fabricants qui nous ont mis à disposition de petites quantités de produits pour nos essais.

La culture qui a reçu le plus grand nombre de traitements et les plus fortes quantités de pesticides était la pomme de terre, suivie du colza, du blé d'hiver et du maïs d'ensilage (tableau 1).

La courbe d'évolution du carbone de la biomasse microbienne ( $C_{mic}$ ) montre clairement les fluctuations saisonnières en fonction des conditions climatiques, de l'évolution de la végétation et des mesures culturales spécifiques. Le  $C_{mic}$  étaient souvent moins élevé dans la couche profonde que dans la couche supérieure du sol, mais dans le premier échantillon sous maïs d'ensilage, la couche supérieure du sol était très sèche, de sorte que l'on y a relevé des valeurs plus basses que dans la couche inférieure (fig. 2). On n'a jamais pu mettre en évidence d'effet significatif de la procédure sur le  $C_{mic}$ , quelle que soit la date de prélèvement, alors que la profondeur a toujours eu un effet significatif. On a toutefois relevé des valeurs de  $C_{mic}$  inférieures au contrôle 10 jours après l'application de Dinosèbe sur les pommes de terre (- 12 %), et 10 jours après l'application de Sulcotrione sur le maïs (- 22 %). Des écarts similaires par rapport au témoin ont été observés avec l'azote fixé par la biomasse microbienne ( $N_{mic}$ ). Là aussi, la procédure n'a révélé aucun effet significatif, alors que celui de la profondeur était toujours significatif. Dans l'essai de pommes de terre réalisé avec les mêmes séries de traitements en local climatisé, le Dinosèbe avait eu un effet à court terme significatif et nettement plus marqué (Fließbach et Mäder, 2004). Il semble donc que le milieu a eu un meilleur effet tampon sur les pesticides que sous atmosphère contrôlée, ce

qui s'explique probablement par les conditions météorologiques et une luminosité accrue. En ce qui concerne l'activité déshydrogénase et la respiration basale, la procédure n'a pas non plus montré d'effet significatif, tandis que la

profondeur et l'effet saisonnier étaient généralement significatifs.

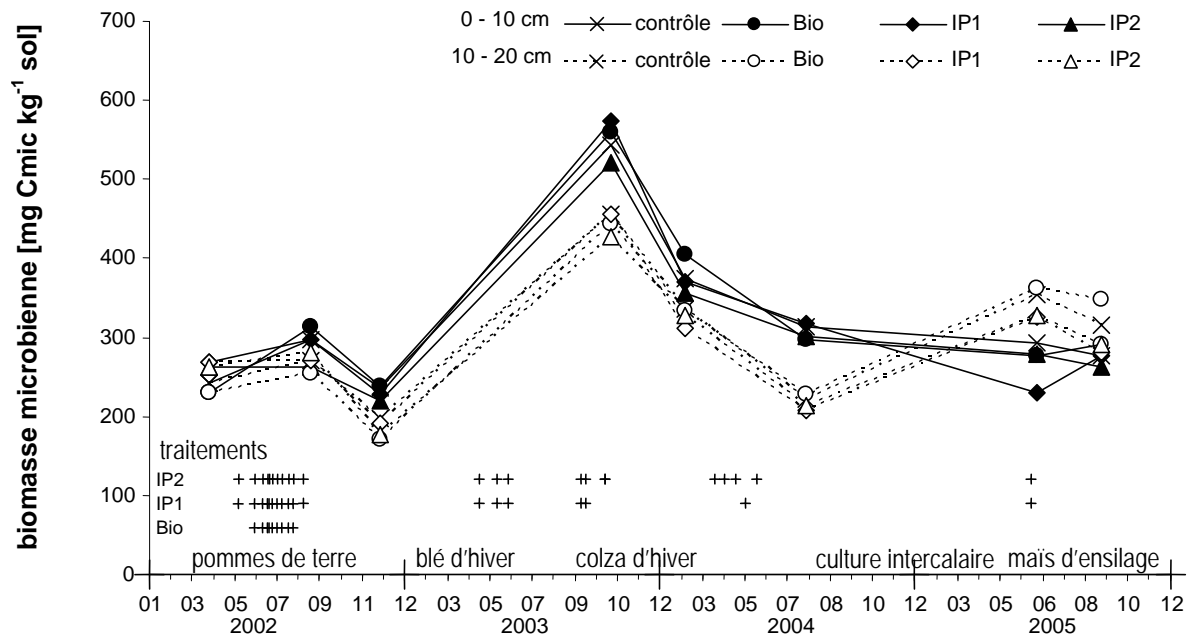


Fig. 2. Biomasse microbienne selon la procédure et la profondeur, essais de pesticides à Full-Reuenthal

Par contre, s'agissant des modèles de dégradation du substrat déterminés par la méthode Biolog ecoplates, l'essai de plein champ a lui aussi révélé des différences entre procédures à deux dates de prélèvement. Ainsi, 10 jours après le dernier traitement, des différences ont été relevées chez les pommes de terre entre la variante PI2 et les variantes bio et PI1, et chez le colza entre la variante bio et les variantes PI1 et PI2. On peut en déduire que les mesures de protection phytosanitaires ont eu une incidence directe ou indirecte sur la communauté microbienne (fig. 3).

Dans l'essai en local climatisé, le pesticide Dinosèbe utilisé comme défendant chez les pommes de terre avait produit beaucoup d'effet après 21 jours, et son impact était encore mesurable après 135 jours. Dans la même variante de l'essai de plein champ, l'effet du Dinosèbe ne s'est manifesté qu'à court terme et n'était plus que de niveau inférieur après 100 jours. Il est vrai qu'avant le prélèvement des échantillons, le terrain avait été labouré et semé

avec du blé, ce qui n'avait naturellement pas été le cas dans l'étude en local climatisé. Du fait du

travail du sol, les couches pédologiques ont été bouleversées et les résidus de récolte incorporés dans le sol. Cela n'a certes pas entraîné d'accroissement de la biomasse microbienne, mais les résidus éventuels de pesticide ont été dilués et leur dégradation peut-être facilitée.

À noter également que si les pesticides peuvent avoir un impact direct sur les organismes du sol, il est possible que ces derniers aient été surestimés dans les variantes bio et contrôle non traitées, car elles comportaient une végétation adventice plus dense. Les herbicides appliqués dans les parcelles PI1 et PI2 se sont en effet montrés très efficaces, alors que dans la variante bio et le témoin, seuls le contrôle mécanique des adventices et le sarclage manuel étaient admis. Ces désherbages ont été réalisés chez les pommes de terre et le maïs, mais se sont révélés plus difficiles chez le colza et le blé en raison de la densité des cultures.

À l'issue de ces quatre années d'essai de plein champ, on peut conclure que les méthodes d'évaluation pédobiologiques n'ont pas révélé d'effet marqué des pesticides utilisés. Il est toutefois intéressant de noter que seules les

variantes PI ont tendance à présenter des valeurs inférieures et des écarts par rapport au contrôle. D'autre part, il se confirme une fois de plus que l'appréciation des effets secondaires des pesticides devrait aussi s'appuyer sur des méthodes d'évaluation de la communauté microbienne, comme le modèle de dégradation

du substrat. Ces variations pourraient être analysées de façon encore plus précise à l'aide de méthodes d'écologie moléculaire (empreintes ADN et PLFA).

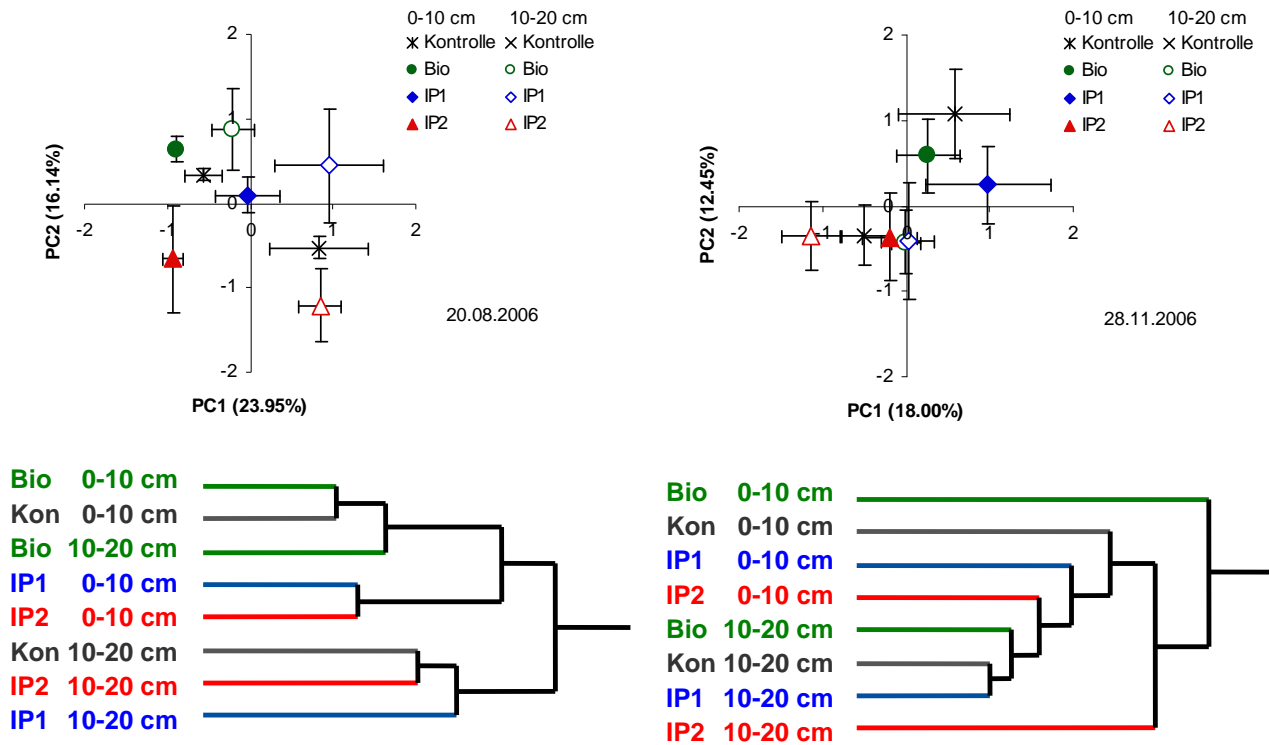


Fig. 3. Résultats de l'analyse en composantes principales et de l'analyse cluster sur les effets de la procédure et de la profondeur aux deux dates de prélèvement après le dernier traitement des pommes de terre (n=4)

### Bibliographie

Fließbach A, Buchleither S, Peng S, Mäder P 2003 : Effets à court et long termes de deux séries de traitements de cultures de pommes de terre sur des paramètres biologiques de la fertilité du sol. Bulletin BSA 7, p. 7 à 10.

Fließbach A and Mäder P 2004 Short- and long-term effects on soil microorganisms of two potato pesticide spraying sequences with either glufosinate or dinoseb as defoliant. Biol. Fertil. Soils 40, 268-276.

OECD 1993 Guidelines for the testing of chemicals, Paris.

### 3.3. Biologie du sol après 10 ans de semis direct ou de labour

Claudia Maurer-Troxler, Office de l'agriculture et de la nature du canton de Berne, Rütli, CH-3052 Zollikofen

Tél. 031 910 53 33

[claudia.maurer@vol.be.ch](mailto:claudia.maurer@vol.be.ch)

Hans-Rudolf Oberholzer, Station fédérale Agroscope Reckenholz-Tänikon ART CH-8046 Zurich

Tél. 01 377 72 97

[hansrudolf.oberholzer@art.admin.ch](mailto:hansrudolf.oberholzer@art.admin.ch)

En grandes cultures, il importe d'utiliser des systèmes de travail du sol moins intensifs de façon à ménager le sol, à assurer sa fertilité à long terme (LPE, 1983) et à améliorer son rendement économique. A l'Inforama Rütli de

Zollikofen, la méthode du semis direct est pratiquée depuis dix ans sur la parcelle

d'observation à long terme « Oberacker ». Cet essai en bandes et sans répétitions vise à montrer les avantages et les problèmes éventuels de ce nouveau système cultural par rapport au système traditionnel de labour. Six soles (limon sableux légèrement humique) situées côte à côte sont cultivées pour moitié en semis direct et pour moitié en labour dans la même rotation de cultures (fig.1).

Outre des relevés agronomiques, chimiques et physiques, l'essai inclut depuis 1998/1999 des recensements des populations de vers de terre et des analyses de la biomasse microbienne et de la respiration du sol selon les méthodes de référence des stations fédérales. Le fait de ne plus travailler le sol crée de nouvelles conditions pour les processus biologiques. Les résidus de récolte ne sont plus incorporés mécaniquement mais restent en quantité à la surface, du moins dans un premier temps.

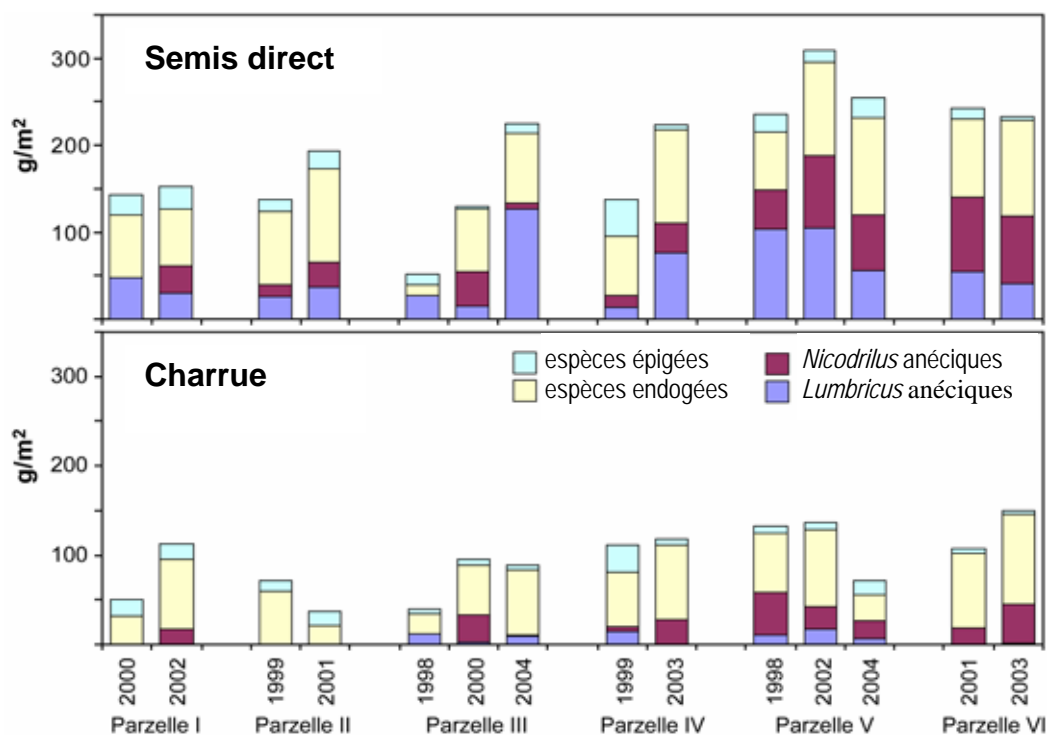


Fig. 4. Biomasse des vers de terre en semis direct et sous labour de 1998 à 2004. Parcelle d'observation à long terme « Oberacker », Rütli-Zollikofen

Pour éviter la prolifération d'agents pathogènes, une décomposition rapide de cette matière organique est nécessaire. Il faut donc qu'elle soit incorporée dans le sol par une population de vers de terre adaptée à cette situation. La décomposition peut alors être assurée par la communauté microbienne active dans le sol. Le semis direct est donc particulièrement tributaire d'une biologie active du sol.

### Populations de vers de terre

La biomasse des vers de terre varie sur les six soles aussi bien en semis direct qu'avec labour (fig. 4). Les interventions mécaniques dépendaient de la rotation des cultures et n'ont donc pas été les mêmes dans tous les cas. En moyenne, les parcelles labourées ont enregistré 37 % de passages supplémentaires. Les soles V et VI ont subi le nombre de passages le plus faible et la sole II, la seule à avoir porté deux fois des pommes de terre, le nombre de passages et donc d'interventions mécaniques le plus élevé. Cela a eu des conséquences sur la biomasse des vers de terre. Dès le premier échantillonnage, les soles V et VI - les moins travaillées - présentaient une biomasse très forte en semis direct et aussi relativement élevée en culture avec labour. Dans les parcelles I à IV, où les interventions mécaniques étaient plus importantes, on a extrait beaucoup moins de vers de terre; toutefois, dans les deux systèmes de culture, les populations de vers de terre ont augmenté avec les années à mesure que l'intervalle de temps croissait depuis la dernière culture de pommes de terre. L'apport régulier de matières organiques sous forme de paille et d'engrais vert constitue une nourriture pour les vers de terre, qui se sont ainsi multipliés également dans le système avec labour. Dans le même essai, Chervet *et al.* (2001) avaient déjà noté un lien entre la part des cultures sarclées et la biomasse des vers de terre. La figure 5 compare les populations de vers de terre un, trois et sept ans après la dernière culture de pommes de terre avec les populations des parcelles n'ayant pas porté de pommes de terre depuis le début de l'essai (valeur de référence). L'année suivante la culture de pommes de terre, les vers de terre sont deux fois moins nombreux qu'après sept ans.

La proportion d'espèces fouisseuses est particulièrement faible dans le système avec labour. En conséquence, l'infiltration de l'eau est réduite dans le système avec labour, surtout pendant

l'été, quand les précipitations peuvent être très fortes.

Les deux espèces du groupe anécique se rétablissent bien dans le système avec semis direct, *Lumbricus terrestris* (fig. 6) atteignant des valeurs particulièrement élevées après sept ans. Dans les parcelles sans pommes de terre, les deux groupes d'espèces fouisseuses sont également représentés. Dans le système avec labour, par contre, les populations n'augmentent que lentement, leur biomasse restant après sept ans moitié moindre que celle observée en semis direct. La proportion d'espèces fouisseuses reste faible et *L. terrestris*, le plus efficace pour drainer le sol, est pratiquement absent.

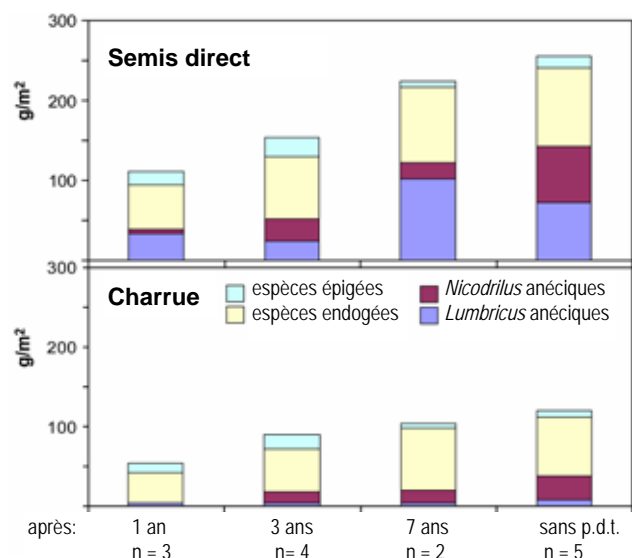


Fig. 5: Biomasse des vers de terre en semis direct et sous labour un, trois et sept ans après une culture de pommes de terre ainsi que dans une rotation sans pommes de terre. Parcelle d'observation à long terme « Oberacker », Rütli-Zollikofen

Dans les parcelles en semis direct, la biomasse atteint 190 g/m<sup>2</sup> en moyenne sur sept ans, soit le double de la biomasse moyenne relevée dans le système avec labour (94 g/m<sup>2</sup>). Dans les parcelles sans pommes de terre, ces biomasses s'élèvent à 255 g/m<sup>2</sup> en semis direct et 120 g/m<sup>2</sup> avec labour. Les valeurs obtenues avec le semis direct sont comparables à celles observées dans des prairies du canton de Berne (réseau cantonal d'observation des sols, KABO Berne, rapport sur les sols, collectif d'auteurs SEA, 2003) ainsi qu'aux fourchettes de référence des prairies permanentes du Plateau suisse (Stähli *et al.*, 1997; tabl. 2).





Fig. 6: L'espèce *Lumbricus terrestris* est aussi active en été; elle maintient donc toujours des galeries ouvertes, ce qui réduit nettement les risques d'érosion.

Avec les années, l'abandon complet du labour permet donc aux populations de vers de terre d'approcher les densités typiques des prairies. Si la rotation ne comprend pas de pommes de terre, on atteint pratiquement les mêmes valeurs en grandes cultures avec semis direct qu'en prairies permanentes.

Les « espèces endogées » sont les mieux représentées dans le système avec labour, alors que les anéciques du genre *Lumbricus* dominent dans le système de semis direct avec l'espèce *L. terrestris*. Ce sont donc surtout les gros vers de terre qui pâtissent du retournement de la terre par la charrue, suivi de la préparation du lit de semis avec des machines à prise de force. Ces gros vers de terre semblent être plus sensibles aux blessures et à la destruction de leurs canaux.

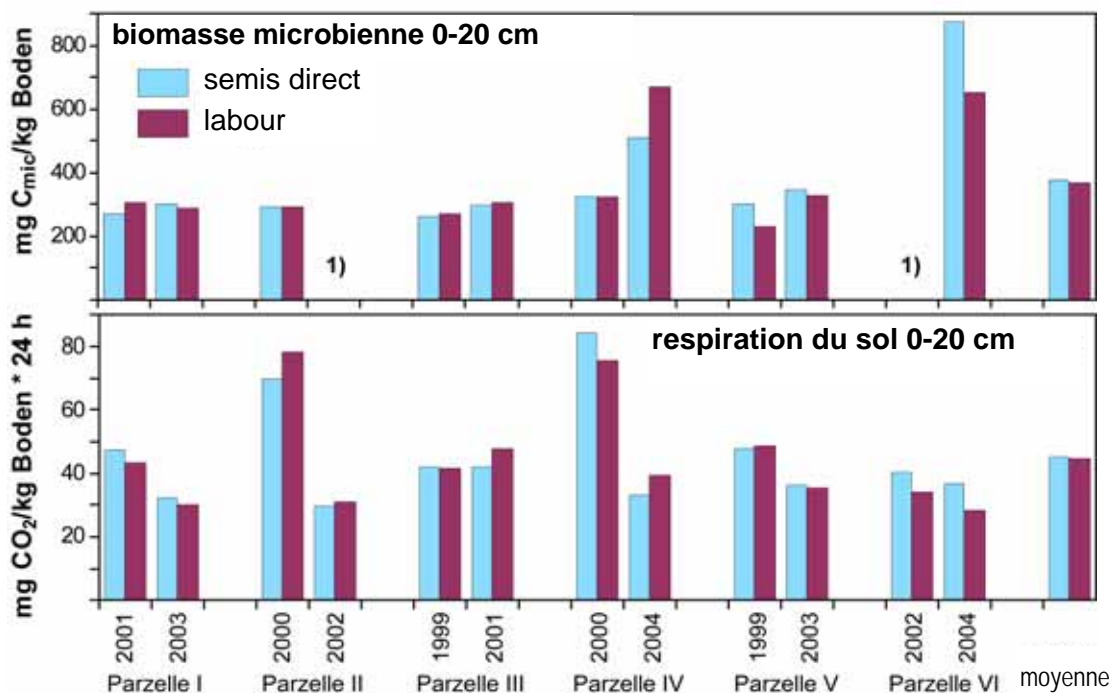


Fig. 7. Biomasse microbienne et respiration du sol de 0 à 20 cm de profondeur en semis direct et sous labour de 1999 à 2004. Parcelle d'observation à long terme « Oberacker », Rütli-Zollkofen

<sup>1)</sup> non pris en considération dans l'évaluation pour des raisons méthodologiques

## Paramètres microbiologiques

En moyenne de toutes les mesures effectuées (six soles, deux horizons, deux dates d'échantillonnage), les deux systèmes d'utilisation du sol ne se distinguent ni par leur biomasse microbienne ni par la respiration du sol (fig. 7). Entre 0 et 20 cm de profondeur, la biomasse moyenne est de 378 mg  $C_{mic}/kg^{-1}$  sol avec semis direct et de 367 mg  $C_{mic}/kg^{-1}$  sol avec labour. Pour la respiration, on a mesuré en moyenne 45,2 mg  $CO_2/kg^{-1}/d^{-1}$  (semis direct) et 44,6 mg  $CO_2/kg^{-1}/d^{-1}$  (labour).

Dans les deux systèmes de culture, la biomasse microbienne et la respiration diminuent normalement avec la profondeur. Cette diminution est moins rapide avec le labour qu'avec le semis direct, ce qui peut s'expliquer par l'effet de mélange du travail du sol.

Plusieurs facteurs peuvent expliquer que l'on n'ait relevé que de faibles différences entre les deux systèmes entre les profondeurs de 0 à 10 cm et de 10 cm à 20 cm considérées séparément. Dans la parcelle labourée, le dernier retournement du sol a eu lieu un an et demi avant l'échantillonnage, ce qui a laissé le temps aux couches du sol de se redifférencier un peu. Dans un sol relativement léger comme celui-ci, la différenciation entre horizons n'est de toute façon pas très marquée. Jäggi *et al.* (2002) ont aussi montré un effet important du retournement sur les populations de vers de terre mais pas sur la biomasse microbienne ni sur la respiration. Malgré des quantités comparables de résidus de récolte, une plus grande biomasse de vers de terre a pu être maintenue dans les parcelles en semis direct. De nouvelles investigations devraient permettre de savoir si cela est dû à une meilleure utilisation des nutriments, confirmée par l'augmentation des rendements observée durant l'essai (Chervet *et al.*, 2005).

La décomposition rapide des résidus de récolte en semis direct permet éventuellement de diminuer l'impact de phytopathogènes comme les fusarioses. Avec les années, il se peut que la flore microbienne évolue et s'enrichisse en antagonistes des fusarioses. En tout cas, l'impact du piétin-verse et du piétin-échaudage peut être réduit par le recours systématique au semis direct (Anken *et al.*, 2004).

## Conclusions

**L'intensité et le nombre** des interventions sur le sol, principalement le labour et la culture de la pomme de terre, déterminent la taille et la composition des populations de vers de terre. Après dix ans de semis direct et en l'absence de pommes de terre dans la rotation, la biomasse totale et la proportion d'espèces fouisseuses sont deux fois plus importantes que celles observées avec le labour et ainsi comparables à celles d'une prairie permanente. Sept ans après la dernière culture de pommes de terre, la population de vers de terre a nettement augmenté, davantage en semis direct qu'en labour et avec une proportion accrue d'espèces fouisseuses, en particulier de *L. terrestris*.

Beaucoup de résidus de récolte restent sur le sol de chacun des deux systèmes comparés. Dans les parcelles labourées, ces matières organiques sont incorporées par le biais du travail du sol et on les retrouve souvent au niveau de la semelle de labour sous la culture suivante. Dans les parcelles en semis direct, l'incorporation est faite par les nombreux vers de terre. Avec l'aide des microorganismes, les résidus de récolte sont entièrement décomposés dans l'année.

La publication intégrale est parue sous le même titre en français dans la « Revue d'Agriculture 38 (2): 89-94, 2006 » et en allemand dans « Agrarforschung 12(10): 460-465, 2005 ».

- Anken, T., Weisskopf, P., Zihlmann, U., Forrer, H., Jansa, J., Perhacova, K., 2004: Long-term tillage system effects under moist cool conditions in Switzerland. *Soil & Till. Res.* 78, 171-183.
- Autorenkollektiv AUL, 2003: Bodenbericht 2003. Volkswirtschaftsdirektion des Kantons Bern, 51 S.
- Chervet, A., Maurer, C., Sturny, W.G., Müller, M., 2001: Direktsaat im Praxisvergleich, Einfluss auf die Struktur des Bodens. *Agrarforschung* 8 (1), 12-17.
- Chervet, A., Ramseier, L., Sturny, W.G., Tschannen, S., 2005: Comparaison du semis direct et du labour pendant 10 ans. *Revue suisse Agric.* 37 (6), 249-256.
- FAL Zürich-Reckenholz, IUL Liebefeld-Bern, RAC Changins, FAW Wädenswil, 1997: Schweizerische Referenzmethoden der Eidgenössischen landwirtschaftlichen Forschungsanstalten, Band 2. Zürich-Reckenholz.
- Jäggi W., Weisskopf P., Oberholzer H.-R., Zihlmann U., 2002: Die Regenwürmer zweier Ackerböden. *Agrarforschung* 9 (10), 446-451.
- Stähli R., Suter E., Cuendet G., 1997: Peuplements lombriciens des prairies permanentes du Plateau suisse. OFEFP, Cahier de l'environnement, n°291, Berne 1997.

## 4. Forum

### 4.1. Méthodes d'écologie moléculaire microbienne appliquées à la détermination de la diversité microbienne dans les sols

Franco Widmer

Écologie moléculaire

Station fédérale de recherche Agroscope

Reckenholz-Tänikon ART

Reckenholzstrasse 191

CH-8046 Zurich

Tél. 044 377 73 76

[franco.widmer@art.admin.ch](mailto:franco.widmer@art.admin.ch)

#### Aperçu et organisation

Agroscope Reckenholz-Tänikon (ART), l'une des trois stations fédérales de recherche rattachées à l'Office fédéral de l'agriculture (OFAG), se consacre principalement à des questions liées à l'agriculture durable, et notamment à l'écologie, qui constitue une partie importante de son travail. Le secteur de l'écologie moléculaire aborde des problèmes écologiques au moyen de méthodes de génétique moléculaire; ses recherches touchent au domaine de l'écologie moléculaire du sol, de la lutte biologique contre les ravageurs, de la diversité de plantes et de la sélection des plantes fourragères. Les travaux de recherche sont partiellement subventionnés par l'OFAG (postes de l'État et contributions ordinaires), mais nécessitent aussi d'intenses recherches de fonds auprès de tiers (projets financés par le FNS, l'OFEV, COST, ISCB, etc.). Ces projets financés par des tiers permettent de soutenir des assistants, des maîtres-assistants et des stagiaires, qui apportent une importante contribution à nos activités de recherche. Nos quatre postes de l'État sont généralement complétés par 6 à 8 postes financés par des tiers. Ce soutien nous est indispensable pour mener à bien notre mission.

L'infrastructure de l'ART et les laboratoires d'écologie moléculaire sont très bien équipés et nous permettent d'obtenir des résultats reconnus au plan international. On trouvera ci-après une description plus précise des domaines de recherche en rapport avec l'écologie microbienne et la qualité du sol. Il faut toutefois se rappeler que ce domaine ne reflète qu'une partie de notre activité.

### Microorganismes du sol

Les microorganismes jouent un rôle fondamental dans le sol. Ils interviennent dans les cycles globaux des substances et dans des processus importants tels que la fixation biologique de l'azote, la dégradation des polluants, l'assimilation de substances nutritives par les plantes ou encore la protection contre des agents pathogènes. Beaucoup de microorganismes impliqués dans ces processus ont été isolés de leur milieu et décrits de façon détaillée. Mais ce n'est qu'en recourant aux analyses génétiques qu'on a pu constater qu'ils ne représentaient que la pointe de l'iceberg. Le nombre et la diversité des microorganismes et de leurs fonctions potentielles dans le sol sont impressionnants. Un seul centimètre cube de terre peut renfermer jusqu'à 10 milliards de microorganismes (tableau 2) appartenant à plusieurs milliers de groupes différents (genres et espèces). Les analyses génétiques ont également démontré que la diversité et l'importance des microorganismes dans la biosphère avaient été largement sous-estimées.

Tableau 2: Nombre et diversité des microorganismes dans différents types de sols (d'après Torsvik *et al.* 2002).

| Sols          | Micro-organismes [cellules/cm <sup>3</sup> ] | Groupes génétiques [génotypes/cm <sup>3</sup> ] |
|---------------|--|---|
| Forêt         | 4,8 x 10 <sup>9</sup>                        | 6000  |
| Prairie       | 1,8 x 10 <sup>10</sup>                       | 3500 - 8800                                     |
| Terre assolée | 2,1 x 10 <sup>10</sup>                       | 140 - 350                                       |

Des recherches détaillées ont montré que les microorganismes constituaient de loin la plus grande partie des organismes vivant sur notre planète; « l'arbre du vivant » en offre une saisissante illustration (fig. 8; Pace, 1997). Les domaines des archées et des bactéries forment les procaryotes, qui ne comprennent que des microorganismes. C'est notamment l'absence de noyau cellulaire qui permet de les distinguer des eucaryotes, où l'on retrouve les protozoaires, les algues, les champignons et des organismes supérieurs. Comme le montre la fig. 8, les microorganismes dominent clairement l'arbre du vivant et sont d'une multiplicité impressionnante.

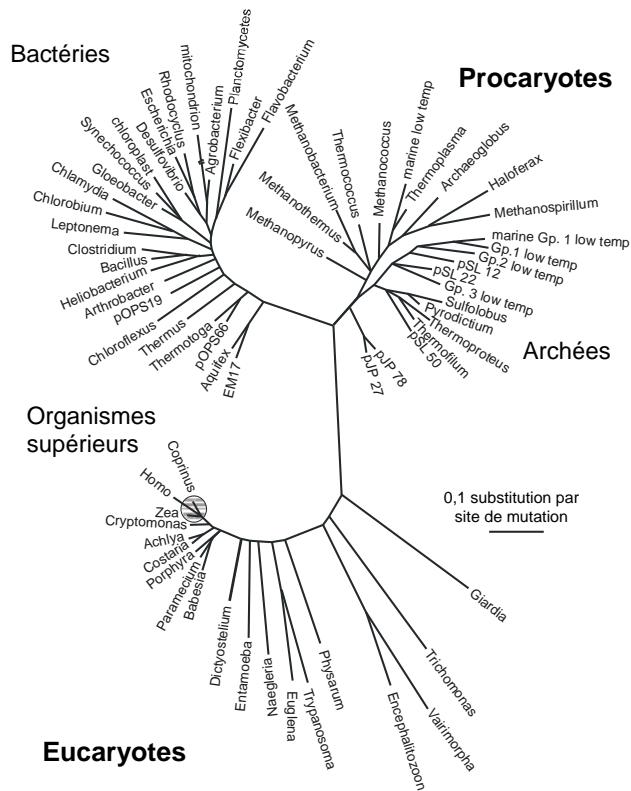


Fig. 8: « L'arbre du vivant ». Les relations généalogiques entre procaryotes (bactéries et archées) et eucaryotes ont été reconstituées sur la base des séquences du gène codant la petite sous-unité de l'ARN ribosomique. On constate que l'arbre du vivant est dominé par les microorganismes et que les organismes supérieurs ne forment qu'une petite partie du règne vivant (d'après Pace, 1997).

La plupart de ces groupes sont encore très difficiles voire impossibles à cultiver. Seule une infime partie, évaluée à 1 %, a été cultivée et décrite avec précision à ce jour. C'est grâce aux méthodes de génétique moléculaire que l'on est parvenu à identifier et décrire cette diversité. Le matériel génétique des microorganismes est directement extrait, par exemple d'un échantillon de terre. On peut ensuite isoler et analyser certains gènes marqueurs par réaction de polymérisation en chaîne (PCR en anglais). Cette méthode permet d'une part de décrire et de comparer la diversité génétique à l'aide de profils génétiques (fig. 9), d'autre part de décoder et de comparer les séquences ADN des gènes marqueurs isolés (voir fig. 8). Un marqueur couramment utilisé est le gène responsable du codage de la petite sous-unité

de l'ARN ribosomique, donc d'une partie de l'appareil de synthèse des protéines. Présent dans tous les organismes cellulaires, ce gène se prête particulièrement bien à des études de parenté ou phylogénétiques. « L'arbre du vivant » reproduit à la figure 8 repose sur une comparaison des similitudes du gène de l'ARN ribosomique (un gène marqueur « phylogénétique ») et présente schématiquement les relations généalogiques de la vie sur la terre.

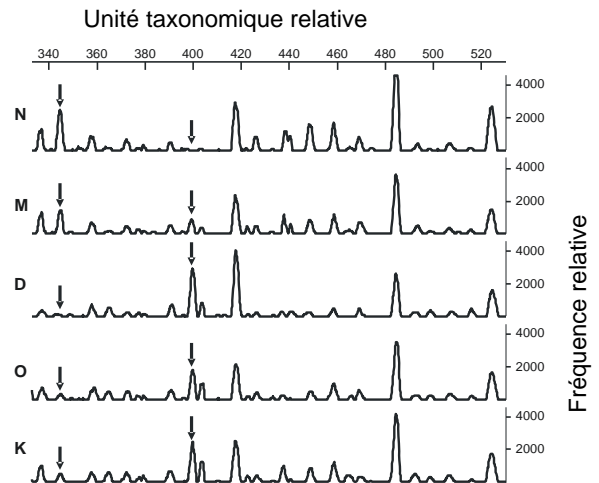


Fig. 9: Extrait de profils génétiques des communautés bactériennes présentes dans les sols de l'essai DOC. Lancé en 1978, cet essai a pour but de comparer les méthodes d'exploitation biodynamique (D), organique (O) et conventionnelle (C). Ces procédures sont complétées par des témoins non fertilisés (N) ou fertilisés exclusivement avec des engrais minéraux (M). Les flèches indiquent les signaux permettant de conclure à des différences de fréquence des bactéries dans les sols des diverses procédures.

Outre ces gènes marqueurs liés à la parenté ou phylogénétiques, il existe des gènes marqueurs « fonctionnels » qui sont importants pour une fonction donnée. Ainsi, les microorganismes fixateurs d'azote se retrouvent dans des groupes très différents du point de vue de la parenté et ne peuvent donc pas être identifiés comme groupe fonctionnel par des marqueurs phylogénétiques. Mais ce groupe peut être déterminé par des marqueurs fonctionnels, qui permettent de savoir par exemple si des fixateurs d'azote sont présents dans un échantillon et de quel type il s'agit.



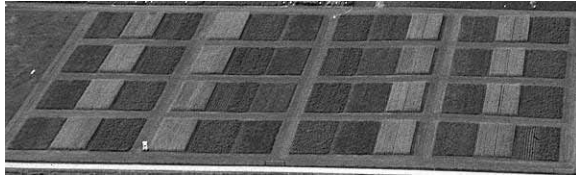


Fig. 10: L'essai DOC à Therwil (BL) a été lancé en 1978 dans le but de comparer les méthodes d'exploitation biodynamique (D), organique (O) et conventionnelle (C). Trois cultures sont pratiquées parallèlement et chaque procédure est répétée quatre fois (photo J. Hättenschwiler, IUL)

La méthode utilisée dépend du problème à traiter: s'il s'agit d'analyser globalement des différences entre échantillons de sol ou des effets inconnus sur le sol, il est recommandé d'utiliser des gènes marqueurs phylogéniques généraux qui permettent d'identifier des domaines entiers, comme les archées, les bactéries ou les eucaryotes (Widmer *et al.*, 2001). Pour étudier des groupes spécifiques dans un sol, comme le genre *Pseudomonas*, on emploiera un gène marqueur phylogénique spécifique (Widmer *et al.*, 1998). Si l'on souhaite plutôt étudier la composition et les variations d'un groupe fonctionnel dans le sol (p. ex. des fixateurs d'azote vivant en liberté), on utilisera des méthodes d'identification de gènes marqueurs fonctionnels (Widmer *et al.*, 1999). Ces différentes approches ont permis de constater que notre compréhension actuelle des structures de population et des fonctions microbiennes dans le sol était encore très limitée. Malgré l'amélioration des méthodes d'analyse, appréhender cette immense variété de microorganismes et leurs fonctions potentielles reste difficile. Pour y parvenir, on s'efforce de rechercher des différences spécifiques au sein de divers systèmes et d'en interpréter les causes et les effets possibles. Les exemples ci-après illustrent cette approche adoptée par le secteur de l'écologie moléculaire de l'ART.

### Écologie moléculaire microbienne dans les sols agricoles

Les sols forestiers et les sols de prairies présentent une diversité de microorganismes nettement plus élevée que les sols agricoles, comme l'ont montré des essais comparatifs de communautés microbiennes (tableau 2). Mais les causes précises et les conséquences éven-

tuels pour l'agriculture restent encore largement méconnues. La baisse de diversité des microorganismes dans les sols agricoles n'est-elle qu'une conséquence systémique et non problématique de cette utilisation spécifique du sol, ou cette biodiversité microbienne pourrait-elle être optimisée de manière ciblée par des mesures spécifiques en vue d'améliorer la fonctionnalité du sol ? Pour clarifier ces questions, l'ART étudie l'influence de différents systèmes culturaux sur la diversité des microorganismes dans le sol.

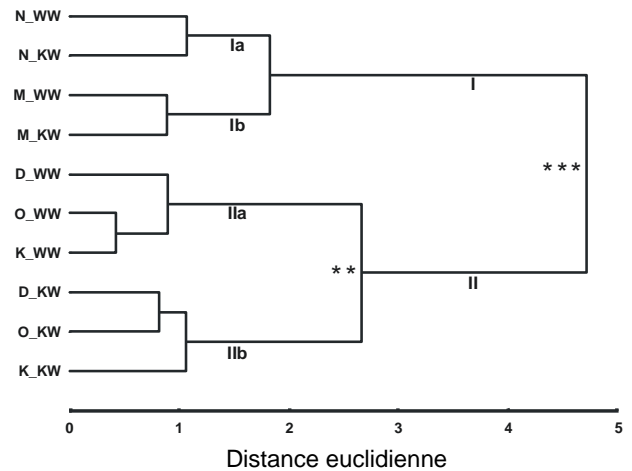


Fig. 11: Analyse cluster basée sur la comparaison de profils génétiques de la flore bactérienne dans les sols de l'essai DOC. On a comparé l'effet des procédures (D, O, C, M et N) et de deux cultures (blé d'hiver (BH) et prairie artificielle (PA)). Les différences significatives sont signalées par des étoiles. Les procédures DOC se distinguent nettement des contrôles (M et N), ce qui s'explique par l'apport d'engrais de ferme (cluster I vs II). Par ailleurs, l'analyse montre clairement que les cultures ont un effet plus marqué que les procédures DOC (cluster IIa vs IIb) (d'après Widmer *et al.*, 2006)

L'essai DOC à Therwil (BL) constitue à cet effet un modèle idéal, car on y compare depuis 1978 l'agriculture bio-dynamique (D), organo-biologique (O) et conventionnelle (C) (fig. 10). Les études menées jusqu'ici ont permis de constater, d'une part, que c'est l'épandage de lisier et de fumier qui a le plus d'influence sur la composition des communautés bactériennes du sol, et, d'autre part, que la culture pratiquée représente aussi un paramètre important. En revanche, l'influence des différents systèmes culturaux (D, O et C) semble moins marquée (fig. 11; Widmer *et al.*, 2006a; Hartmann *et al.*, 2006). On ne peut



pas encore dire avec certitude lesquelles de ces influences sont positives ou négatives, mais cette question sera un thème central des futures recherches. Nos premiers résultats montrent clairement que certaines mesures culturales ont un impact sur les populations des microorganismes du sol. Nous allons donc étudier ces prochaines années des groupes fonctionnels et phylogénétiques spécifiques, afin de mieux connaître les effets des procédés agricoles sur le sol et de continuer à les optimiser.



Fig. 12: Un ver blanc attaqué et tué par *Beauveria brongniartii*. Ce champignon présent à l'état naturel est utilisé depuis 1991 en Suisse dans la lutte biologique contre la larve du hanneton (photo J. Enkerli, ART)

Des méthodes similaires à celles appliquées dans l'essai DOC sont utilisées pour étudier les conséquences de pollutions aux métaux lourds (Hartmann *et al.*, 2005; Widmer *et al.*, 2006b), de l'entreposage de matériaux terreux (Pesaro *et al.*, 2004), de plantes génétiquement modifiées ou de produits phytosanitaires. Là non plus, on ne connaît pas les microorganismes susceptibles d'être touchés, d'où la nécessité de décrire la diversité des microorganismes et de rechercher des modifications dans les structures de population par un screening pour marqueurs phylogénétiques généraux.

### Champignons entomopathogènes dans la lutte biologique contre les ravageurs

Certains champignons entomopathogènes sont utilisés dans le contrôle biologique d'insectes nuisibles. La station ART a notamment développé un produit tiré d'un champignon indigène,

*Beauveria brongniartii*, qui infecte spécifiquement les vers blancs et permet de contrôler leurs dégâts dans les surfaces herbagères et les cultures fruitières (fig. 12; Keller, 2004). Bien qu'il s'agisse d'un antagoniste naturel du hanneton et que la procédure soit commercialisée et utilisée avec succès depuis 1991, il est nécessaire de mener un suivi de l'efficacité, de la stabilité, de la rémanence et des éventuels effets secondaires sur l'environnement. Des méthodes spécifiques de génétique moléculaire ont donc été développées pour identifier la souche fongique utilisée et de suivre sa persistance dans l'environnement (Enkerli *et al.*, 2001). On a pu ainsi démontrer que les champignons utilisés étaient encore détectables dans le champ 15 ans après l'application et qu'ils s'étaient intégrés dans les populations existantes de *Beauveria brongniartii* (Enkerli *et al.*, 2004).

Des essais sur d'éventuels effets secondaires sont en cours, principalement pour étudier les interactions du champignon avec la communauté endogène de champignons du sol. Des études similaires sont développées pour d'autres champignons entomopathogènes (p. ex. *Metarhizium anisopliae*) susceptibles d'être utilisés pour le contrôle d'autres insectes nuisibles, comme le ver fil de fer ou le hanneton de la Saint-Jean (Enkerli *et al.*, 2005).

Comme on l'a vu, les microorganismes ne peuvent pas tous être cultivés. C'est le cas de certains champignons entomopathogènes, ce qui complique leur utilisation dans le contrôle biologique. *Pandora neoaphidis*, un autre champignon indigène qui s'attaque spécifiquement aux pucerons, en offre un exemple. Ce champignon est très difficile à cultiver, d'où l'impossibilité de développer une préparation pour des applications ciblées. C'est pourquoi on étudie s'il serait possible, par des mesures ciblées telles que la création de surfaces naturelles ou de bandes non labourées en bordure de champ, de favoriser le développement de ce champignon directement au sein du système écologique.

Les connaissances actuelles sur le comportement et l'habitat de ce champignon sont encore assez lacunaires, notamment parce qu'il est si difficile à cultiver. On a donc recours là aussi à la génétique moléculaire pour étudier sa présence et sa répartition. C'est ainsi qu'une méthode d'identification phylogénétique spécifique

a été développée pour rechercher les habitats privilégiés de ce champignon dans l'environnement.

## Conclusions

Les microorganismes présentent une incroyable diversité dans le sol et remplissent d'importantes fonctions. Tout comme les propriétés chimiques et physiques, ces propriétés pédobiologiques peuvent fournir des informations sur l'état d'un sol. Mais il nous faut apprendre à lire et à comprendre ces informations si l'on veut pouvoir les exploiter pour l'évaluation de la qualité des sols. Une meilleure compréhension de la pédomicrobiologie nous permettra aussi d'utiliser ou de développer de façon ciblée les fonctions de certains microorganismes et de soutenir ainsi des processus très divers, comme le contrôle biologique ou la régulation de ravageurs.

## Références

- Enkerli J., F. Widmer, C. Gessler, S. Keller (2001). Strain-specific microsatellite markers in the entomopathogenic fungus *Beauveria brongniartii*. *Mycological Research* 105: 1079-1087
- Enkerli J., F. Widmer, S. Keller (2004). Long-term persistence of *Beauveria brongniartii* strains applied as biocontrol agents against European cockchafer larvae in Switzerland. *Biological Control* 29: 115-123
- Enkerli J., R. Kölliker, S. Keller, F. Widmer (2005). Isolation and characterization of microsatellite markers from the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Molecular Ecology Notes* 5: 384-386
- Hartmann M., B. Frey, R. Kölliker, F. Widmer (2005). Semi-automated genetic analyses of soil microbial communities: comparison of T-RFLP and RISA based on descriptive and discriminative statistical approaches. *Journal of Microbiological Methods* 61: 349-360
- Hartmann M., A. Fließbach, H.-R. Oberholzer, F. Widmer (2006). Ranking the magnitude of crop and farming system effects on soil microbial biomass and genetic structure of bacterial communities. *FEMS Microbiology Ecology*
- Keller S. (2004). Bekämpfung von Maikäfer-Engerlingen mit dem Pilz *Beauveria brongniartii* in der Schweiz. *Laimburg Journal* 1: 158-164
- Pace N. (1997). A molecular view of microbial diversity and the biosphere. *Science* 276: 734-740
- Pesaro M., G. Nicollier, J. Zeyer, F. Widmer (2004). Impact of soil drying-rewetting stress on soil microbial communities and activities and on degradation of two crop protection products. *Applied and Environmental Microbiology* 70: 2577-2587
- Torsvik V., L. Øvreås, T. F. Thingstad (2002). Viewpoint: prokaryotic diversity - magnitude, dynamics, and controlling factors. *Science* 296: 1064 - 1066
- Widmer F., R. J. Seidler, P. M. Gillevet, L. S. Watrud, G. D. Di Giovanni (1998). A highly selective PCR protocol for detecting 16S rRNA genes of the Genus *Pseudomonas* (sensu stricto) in environmental samples. *Applied and Environmental Microbiology* 64: 2545-2553
- Widmer F., B. T. Shaffer, L. A. Porteous, R. J. Seidler (1999). Analysis of nifH Gene pool complexity in soil and litter at a Douglas fir forest site in the Oregon Cascade mountain range. *Applied and Environmental Microbiology* 65: 373-380
- Widmer F., A. Fließbach, E. Laczkó, J. Schulze-Aurich, J. Zeyer (2001). Assessing soil biological characteristics: a comparison of bulk soil DNA-, PLFA-, and community Biolog™-analyses. *Soil Biology & Biochemistry* 33: 1029-1036
- Widmer F., F. Rasche, M. Hartmann, A. Fließbach (2006a). Community structures and substrate utilization of bacteria in soils from organic and conventional farming systems of the DOK long-term field experiment. *Applied Soil Ecology* 33: 294-307
- Widmer F., M. Hartmann, B. Frey, R. Kölliker (2006b). A novel strategy to extract specific phylogenetic sequence information from community T-RFLP. *Journal of Microbiological Methods* 66: 512-520