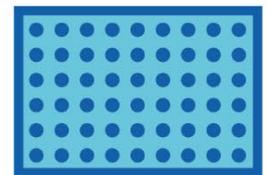
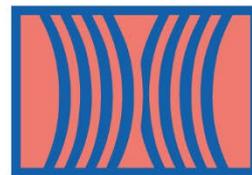


COMMUNICATIONS ORALES

5^e RENCONTRES NATIONALES

de la Recherche sur
les sites et sols pollués

04 et 05 février 2025 - Paris



Recueil des résumés

ATELIER 3A : Approches intégrées
de l'évaluation des risques
environnementaux

En partenariat avec :



Atelier 3A

Approches intégrées de l'évaluation des risques environnementaux

[Exposition et impacts sur le vivant]

Retour d'expérience sur l'applicabilité et l'opérationnalité de la norme TRIADE 3

Le projet TRIPODE

Nouveaux éléments pour optimiser l'approche TRIADE 7

Diagnostiquer la santé d'un sol sur la base de la chimie,
de l'écotoxicologie et de l'écologie

Diagnostic écologique des sols contaminés : utiliser les traits fonctionnels des bactéries et invertébrés 13

Retour d'expérience sur l'applicabilité et l'opérationnalité de la norme TRIADE

Le projet TRIPODE

Benjamin Pauget¹, Nicolas Manier², Valérie Bert², Nicolas Pucheux (Coord.)²

¹ TESORA, 41 Rue Périer, 92120 Montrouge ;

² INERIS, Rue Jacques Taffanel, 60550 Verneuil-en-Halatte

Contact : benjamin.pauget@tesora.fr

Résumé

Il existe un besoin de caractérisation des risques environnementaux pour les sites et sols pollués. L'utilisation des concentrations totales seules peut conduire à une surestimation du risque pour les écosystèmes. Ainsi l'utilisation d'une batterie d'indicateurs (indicateurs de mobilité, de biodisponibilité, de toxicité des polluants dans le sol, de biodiversité...) suivant une stratégie définie, permet de calculer une note intégrative plus robuste et réaliste du risque environnemental. Cette note peut être calculée selon la méthodologie TRIADE (norme ISO 19204 en révision). Cependant, il existe un besoin de clarifier et d'optimiser l'opérationnalité de cette méthodologie pour dynamiser sa mise en application par les différents acteurs de la gestion des sites à passifs environnementaux. L'étude conduite dans le projet Tripode a permis de mettre en évidence que même si un site présente une contamination en éléments métalliques dans ses sols, le risque environnemental de cette contamination peut être acceptable pour un usage environnemental (zone naturelle...).

Introduction

De nombreuses friches présentent une situation de blocage de reconversion d'usage lorsque la valeur du foncier est dégradée (site orphelin, milieu rural ou de faible activité socio-économique). Il existe pourtant plusieurs voies de valorisation en dehors de la réalisation d'habitations ou de zones d'activités. Ainsi, certaines friches peuvent trouver une seconde vie à travers des projets de revégétalisation favorisant la biodiversité et leur intégration dans le paysage. Le blocage vient alors de la difficulté à se prononcer vis-à-vis du risque que les contaminants présents dans les sols représentent pour les écosystèmes.

Le projet TRIPODE a pour objectif de fournir aux acteurs des sites et sols pollués un outil opérationnel d'évaluation du risque pour les écosystèmes (ERE). Pour cela, il prévoit d'améliorer la méthode décrite dans la norme ISO 19204 (approche TRIADE de la qualité du sol – en révision) et d'assurer son opérationnalité. Un second objectif porte sur la formulation des recommandations d'aspect pratique ayant trait à la mise en application de la norme et à destination des bureaux d'études. Le but est d'assurer la transférabilité de la norme aux acteurs de l'évaluation des risques sanitaires et environnementaux pour garantir son opérabilité et son acceptabilité par les maîtres d'ouvrages et l'administration.

Matériel et méthodes

La méthodologie TRIADE est une méthodologie d'évaluation des risques pour les écosystèmes décrite dans la norme ISO 19204-2017. C'est une approche holistique et structurée qui permet de mettre en évidence un risque environnemental lié à la présence d'un ou plusieurs contaminant(s) dans les sols. Cette procédure permet d'identifier et d'évaluer les impacts potentiels sur les écosystèmes terrestres, en prenant en compte les caractéristiques propres au site et les substances chimiques présentes. Cette évaluation repose sur trois piliers (approches) fondamentaux

- - L'approche chimique consiste à caractériser et quantifier les contaminants présents dans les sols et le compartiment biologique du site d'étude.
- - L'approche écotoxicologique consiste à évaluer les effets toxiques sur les populations d'organismes par la mise en œuvre d'une stratégie d'essais en laboratoire.
- - L'approche écologique consiste à évaluer la qualité écologique (biodiversité et fonctionnement) du milieu d'étude. Cette approche va intégrer l'ensemble des voies d'exposition des organismes aux contaminants présents dans les sols.

Une fois ces trois approches réalisées, les données recueillies sont confrontées entre elles après avoir été normalisées pour évaluer le niveau de risque pour les écosystèmes (ERE) associé à la contamination des sols. La démarche suivie pour cette confrontation est de travailler dans une optique de faisceau de preuve (Line of Evidence, LoE). Si les différentes approches apportent des conclusions similaires, l'évaluation du risque environnemental est alors conclusive (absence ou présence de risques). Si des divergences entre les conclusions des différentes approches sont notables il conviendra alors de poursuivre la démarche en effectuant une itération avec des indicateurs plus complexes au sein des trois approches (démarche itérative jusque trois niveaux ou TIERS). Cette démarche itérative permet une gestion optimisée des ressources en fonction des sites étudiés.

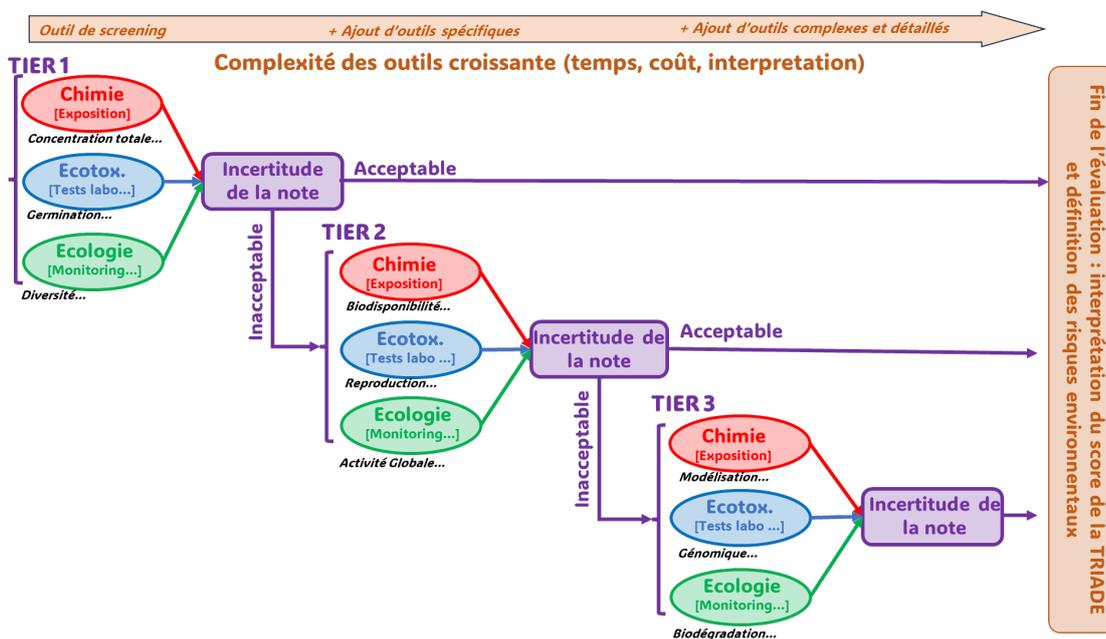


Figure 1 : les trois approches du risque pour les écosystèmes utilisés dans la norme ISO 19204 TRIADE.

Résultats et discussion

Le site d'étude du projet est situé à proximité d'une voie de chemin de fer. Aucune ancienne activité n'est identifiée sur le site dans les bases de données BASOL/BASIAS/SIS. La zone d'étude se trouve dans un périmètre naturel protégé (ZNIEFF2 et Natura2000). Les usages actuels sont fixes et aucune modification n'est prévue, le site étant actuellement en zone naturelle. La zone témoin a été sélectionnée dans une optique de rester sur le site d'étude. Pour évaluer les risques pour les écosystèmes, un ensemble d'indicateurs a été utilisé :

- LoE Chimie : concentration totale (T1), Indice de Préoccupation (T1), Test de lixiviation (eau, T2), Indice SET (escargots, T2) ;
- LoE Ecotoxicologie : Activité de la déshydrogénase (T1), Mortalité (*E. fetida*, T1), Croissance/ reproduction de *C. elegans* (T2), croissance des végétaux supérieurs (2 sp., T2), Indice Oméga3 (T2) ;
- LoE Ecologie : Couvert végétal (T1), Dégradation de la MO (T1), Indice nématofaune (T2), qualité microbiologique (T2).

L'utilisation de l'ensemble de ces indicateurs a permis de réaliser les deux premiers TIER de la méthodologie TRIADE. A l'issue du premier TIER, bien que les LoE Ecotoxicologie et écologie présentent des notes faibles et de niveaux comparables (l'écart type faible traduit une conclusion cohérente pour les deux approches), il est mis en évidence une note forte de la LoE chimie (0,48) liée à une teneur en plomb importante qui conduit à une incertitude inacceptable à ce stade de l'étude lors du calcul de la LoE chimie (Fig. 2). Le calcul de la note de la TRIADE du TIER 1, ne permet donc pas de statuer clairement sur une absence de risque pour les écosystèmes. Les indicateurs du TIER 2 sont donc ajoutés au calcul. Ils apportent des réponses complémentaires aux outils du TIER 1. Dans la LoE chimie, il apparaît que les indicateurs de potentiel toxique (IdP), mobilité (lixiviation) et de biodisponibilité (SET escargot) démontrent une exposition négligeable des organismes et donc une absence de risque. Il est alors estimé que la concentration totale n'est plus pertinente au regard de ces nouveaux éléments. Concernant la LoE Ecologie, une amélioration de la note en T2 est identifiée grâce à la prise en compte de la diversité des nématodes et de la qualité microbiologique. La confrontation des 3 LoE, intégrant les réponses des indicateurs du TIER2, permet de calculer une note globale de TRIADE de 0.18 ± 0.12 . Cette fois, le faible score couplé à un écart type faible, permet de conclure sur une absence de risque environnemental sur la parcelle d'étude pour l'usage naturel en cours.



Figure 2 : calcul des notes des LoE et de la TRIADE pour chaque TIER.

Cependant, bien que la note de TRIADE indique un risque négligeable, une étude approfondie de la LoE Ecologie nous informe qu'un léger dépassement de l'objectif de note de 0,25 (usage naturel), est observé pour 3 indicateurs. Il apparaît alors pertinent de recommander un suivi environnemental (de type bilan quadriennal) et la réalisation de nouvelles mesures d'indicateurs écologiques pour sécuriser l'absence de risques pour les écosystèmes pour un usage naturel.

Conclusions et perspectives

L'utilisation de la TRIADE et d'outils complémentaires (chimie, écotoxicologie, écologie) a permis de démontrer une absence de risques pour les écosystèmes sur un site présentant pourtant une contamination des sols en Pb (120 mg/kg^{-1}). Ainsi la TRIADE permet d'apporter des éléments de réponse permettant non seulement d'optimiser les opérations de gestion des sites à passifs environnementaux mais également de valider et de sécuriser la compatibilité des risques environnementaux avec les usages actuels et/ou futur des sites.

Remerciements

Les auteurs remercient l'ADEME et Cécile Grand pour le soutien apporté à ce projet dans le cadre du dispositif d'aide à la recherche GESIPOL.

Nouveaux éléments pour optimiser l'approche TRIADE

Diagnostiquer la santé d'un sol sur la base de la chimie, de l'écotoxicologie et de l'écologie

Lilian Marchand ^{1*}, Florence Baptist ^{2,3*}, Aurélie Bonin ^{4*}, Eva Bellemain ⁴, Maxime Louzon ^{3,5}, Cécile Grand ⁶, Sylvie Nazaret ⁷, Emmanuelle Oppeneau ¹, Florence Maunoury-Danger ⁸, Aymeric Besse ⁹, Maxime Bouyer ⁹, Nadège Oustrière ⁹, Nicolas Manier ¹⁰, Valérie Bert ¹⁰, Nicolas Pucheux ¹⁰, Benjamin Pauget ¹¹, Jennifer Hellal¹².

¹ SUEZ le LyRE – 15 avenue Leonard de Vinci – 33600 Pessac – France lilian.marchand@suez.com; emmanuelle.oppeneau@suez.com

² SOLTIS Environnement - 80 Boulevard Franklin Roosevelt – 38500 Voiron – France fbaptist@soltis-environnement.com

³ CRISALID LIVING LAB – 29 avenue Victor Hugo – 38800 LE PONT DE CLAIX - France

⁴ ARGALY - Cleanspace, 354 voie Magellan – Alpespace – 73800 Saint Hélène du Lac – France aurelie.bonin@argaly.com; eva.bellemain@argaly.com

⁵ Pôle Ecosystèmes, ENVISOL - 2 rue Hector Berlioz – 38110 La Tour du Pin – France m.louzon@envisol.fr

⁶ ADEME - Service Sitésol – Sécurisation et reconversion des friches polluées 20 Avenue du Grésillé –49004 ANGERS - France cecile.grand@ademe.fr

⁷ UMR1418 - Ecologie Microbienne (LEM) - Université Claude Bernard Lyon 1 - 43 BOULEVARD du 11 Novembre 1918 - 69622 Villeurbanne – France Sylvie.Nazaret@univ-lyon1.fr

⁸ UMR 7360 - Laboratoire Interdisciplinaire des Environnements Continentaux (LIEC) – CNRS/Université de Lorraine Campus Bridoux, Bât. IBISE, 8 rue du Général Delestraint 57070 Metz – France [florence.maunoury-danger\(@\)univ-lorraine.fr](mailto:florence.maunoury-danger(@)univ-lorraine.fr)

⁹ BORDEAUX METROPOLE - Pôle patrimoine végétal et biodiversité - Esplanade Charles-de-Gaulle 33076 Bordeaux - France m.bouyer@bordeaux-metropole.fr; ay.besse@bordeaux-metropole.fr; n.oustriere@bordeaux-metropole.fr

¹⁰ INERIS Parc Technologique Alata - BP 2 - 60550 Verneuil-en-Halatte – France nicolas.manier@ineris.fr; nicolas.pucheux@ineris.fr; valerie.bert@ineris.fr

¹¹ TESORA - 41 Rue Périer, 92120 Montrouge – France benjamin.pauget@tesora.fr

¹² BRGM - Direction de l'Eau, de l'Environnement, des Procédés et Analyses - Unité Géomicrobiologie et Monitoring de l'Environnement - 3 av. Claude-Guillemin - BP 36009 - 45060 ORLÉANS. j.hellal@brgm.fr

Résumé

A ce jour, les diagnostics environnementaux dans le domaine des sites et sols pollués (SSP) évaluent principalement la qualité d'un sol par le biais d'analyses physico-chimiques. Sur cette base, des volumes et surfaces conséquents de sol sont déclarés « pollués » et traités comme tel sans que l'on connaisse réellement leur écotoxicité associée, ni leur potentiel écologique. Or la santé d'un sol ne peut pas être correctement évaluée à la seule aune d'analyses physico-chimiques. Ce diagnostic requiert une approche plus holistique. C'est ce que propose l'approche TRIADE (NF ISO 19204), basée sur trois « éléments de preuve » (LoE) : la physico-chimie, l'écotoxicologie et l'écologie. Le projet DIVA (ADEME GESIPOL – 2022/2025) propose un calcul alternatif à l'approche TRIADE classique pour produire un rendu multiparamétrique illustrant l'état de santé du sol à l'instant T. L'approche TRIADE DIVA permet ainsi à la fois d'estimer un risque pour les écosystèmes mais également de suivre l'évolution de la santé du sol au cours du temps (ex. dans le cadre d'une opération de réhabilitation écologique). Le projet apporte également de nouveaux éléments concernant la place des indicateurs relatifs à l'écologie (à plusieurs niveaux : populationnel, individuel, cellulaire et moléculaire) et à l'agro-pédologie dans les notation TRIADE. Ces travaux permettent d'avoir une vision exhaustive de la « qualité » d'un sol et de sa « santé » lors d'une évaluation des risques environnementaux (ERE).

Introduction

Dans un contexte de transition écologique, la feuille de route écologie circulaire (FREC) émise par le ministère de l'Écologie en 2019 vise entre autres à réduire de 50 % les quantités de déchets non dangereux mis en décharge en 2025 par rapport à 2010 (FREC, 2019). Les sols urbains excavés lors de chantiers peuvent faire partie de ce type de déchets s'ils ne sont pas revalorisés. Cependant, les diagnostics environnementaux actuels sur sols urbains évaluent majoritairement leur qualité à partir d'analyses chimiques réalisées soit sur la matrice sol, soit sur la matrice liquide après extraction à l'eau (lixiviât). Sur cette base, lorsque des terres sont excavées, une partie d'entre elles est éliminée en centre de stockage sans que l'on ne connaisse réellement leur niveau d'écotoxicité associée, ni leur potentiel écologique (*i.e.* capacité de ces sols à exprimer des fonctions et à subvenir aux besoins des usages envisagés : fertilité, stockage du carbone, support de biodiversité etc.). De manière similaire, certaines friches peuvent parfois, malgré leur contamination, accueillir des écosystèmes de transition pouvant avoir une réelle valeur écologique. Dans ce contexte, les méthodologies d'évaluation des risques pour les écosystèmes ne sont généralement pas utilisées. Des incertitudes peuvent alors subsister quant à la meilleure approche de gestion : réhabilitation *in situ*, revalorisation *ex-situ*, etc.. Une amélioration *in situ* de la qualité des sols issus de l'espace urbain via des techniques issues du génie pédologique ou génie écologique peut par exemple être envisagée comme alternative au recouvrement par de la « terre végétale » prélevées dans les ceintures vertes, tout en privilégiant le réemploi de matériaux urbains et favorisant une économie circulaire.

Pour pouvoir mieux appréhender la qualité et la santé d'un sol urbain, ainsi qu'un potentiel risque environnemental pouvant être associé à sa contamination, il est nécessaire de le soumettre à une démarche d'évaluation du risque environnemental (ERE). A ce jour, l'approche TRIADE (NF ISO 19204, 2018) est l'un des outils les plus avancés pour réaliser des ERE sur sols contaminés. Cependant, cette approche est complexe à mettre en œuvre. De plus, si le rôle des analyses chimiques et des tests écotoxicologiques dans la démarche TRIADE pour caractériser la contamination du sol et ses effets sur le vivant est claire, celle des tests relatifs à l'écologie des sols, plus intégratifs, nécessite d'être clarifiée. Quels signaux écologiques recherche-t-on ? Que traduisent ils ? A quels paramètres du sol sont-ils liés ? etc. Enfin, l'approche TRIADE produit une notation qui peut parfois être mal interprétée, notamment dans le cas d'évaluation de l'efficacité de mesures de réhabilitation écologique d'un site contaminé.

Dans la continuité de projets portés par l'INERIS (TRIPODE, TRIPLE, **Pucheux et al. 2017**) et VALHORIZ/BRGM (BIOTUBES), le projet DIVA a pour vocation à proposer un calcul alternatif à l'approche TRIADE classique pour produire un rendu multiparamétrique illustrant l'état de santé du sol à l'instant T. L'approche TRIADE_{DIVA} permet ainsi à la fois d'estimer un risque pour les écosystèmes mais également de suivre l'évolution de la santé du sol au cours du temps. L'objectif du projet est triple :

- Mieux intégrer les paramètres relatifs à l'écologie (et à l'agro-pédologie) du sol dans une démarche TRIADE
- Proposer une méthodologie de calcul permettant d'illustrer la santé d'un sol sur la base d'un approche multiparamétrique (approche basée sur la méthodologie TRIADE)

Matériel et méthodes

Trois sites d'études ont été retenus pour le projet DIVA : les sites de Saint Chamond (42), Pierre-Bénite (69) et Bordeaux (33). Ils ont été investigués lors de trois campagnes d'échantillonnage en 2022, 2023 et 2024.

Le site de Saint-Chamond est un ancien complexe métallurgique de grande envergure en phase de réaménagement depuis 2018. Les parcelles étudiées y ont été créées sous forme d'un mix entre sols issus de l'espace urbain, modérément contaminés aux éléments traces (ET), amendés avec des mélanges de compost vert et d'argile en 2018 dans le cadre d'un précédent projet de R&D : le projet AGREGE. Le site de Pierre-Bénite est une lône localisée dans le complexe industriel de la « vallée de la chimie ». Cet espace est également soumis à une phase de réhabilitation écologique depuis 2018. Les sols de la parcelle DIVA ont été reconstruits à partir de sols urbains faiblement pollués, en mélange avec un compost MIATE réalisé à partir de refus fibreux de papeterie (projet AGREGE, 2018). Le site de Bordeaux se situe lui sur une ancienne mosaïque de sites industriels. Le lieu a abrité pendant plusieurs décennies une entreprise spécialisée dans la peinture et le traitement des métaux. Il en résulte principalement une contamination importante des sols aux éléments traces. En partenariat avec Bordeaux métropole, 4 parcelles y ont été créées en mars 2022 pour le projet DIVA (témoin non amendé et trois parcelles respectivement amendées en biochar, compost et biodigestat).

Sur chacun des sites, le pool d'analyses a été mené comme suit :

- Un sol de référence (REF), correspondant au fond pédogéochimique local, n'étant *a priori* pas soumis à une contamination connue, et présentant un couvert végétal non dégradé. La modalité REF est considérée comme l'objectif ultime à atteindre dans le cadre d'une opération de réhabilitation écologique.
- Un sol témoin contaminé (T) n'ayant subi aucun remaniement avant notre intervention (à l'exception du site de Pierre Bénite où nous n'avons pas de modalité T, ceci dû au fait que l'ensemble des sols contaminés de la zone avaient tous été réhabilités dans le cadre d'activités de R&D antérieures)
- Un ou plusieurs sols réhabilités par ajout d'amendements (trois modalités à Saint Chamond, trois modalités à Bordeaux, une modalité à Pierre Bénite).

Détail des analyses menées dans le cadre du projet :

LoE chimie :

- Concentrations totales en ET
- Biodisponibilité environnementale : concentrations extractibles au CaCl₂, ionomes foliaires *ex situ* (avoine et haricots nains), indice « Phytoac » *in situ*, transferts vis-à-vis de l'escargot (indice SET) *ex situ*.

LoE Ecotoxicologie

- Ecotoxicité sur végétal : germination, croissance racinaire et croissance des parties aériennes supérieures pour une espèce monocotylédone (avoine) et une espèce dicotylédone (haricot nain)
- Ecotoxicité sur animal : indice GERITOXE *ex situ* (escargots, *Cantareus aspersus*), croissance, fertilité et reproduction du nématode *Caenorhabditis elegans*

LoE Ecologie

- Dégradation de la matière organique : dégradation de bandes de cellulose, litter bags de thé vert et de rooibos,
- Microrespiration induite et basale
- Indices nématode de fonctionnalité

- Biomasse microbienne (par fumigation et qPCR)
- Activités enzymatiques : Mesure de l'activité de cinq enzymes et de l'abondance relative de gènes fonctionnels c'est-à-dire codant pour certaines enzymes
- Richesse du sol par ADNe (métabarcoding): bactéries, eucaryotes totaux, champignons, acariens, collemboles, nématodes

Complément Agro-pédologie

- Pack agro-pédologique (C/N, texture, pH, teneur en carbone et azote total, teneur en matière organique (MO), P₂O₅ Olsen, CEC, CaCO₃), analyse Rockeval pour évaluer la stabilité du carbone, fractionnement de la matière organique, densité apparente

Résultats et discussion

Le projet DIVA a permis d'élargir l'utilisation de l'approche TRIADE au-delà du seul diagnostic de l'état d'un sol contaminé, en l'adaptant de manière à pouvoir également monitorer le devenir d'un sol avant/après une opération de réhabilitation. Dans ce cadre, TRIADE_{DIVA} propose un calcul alternatif basé sur la méthodologie TRIADE existante, mais plus simple à mettre en œuvre. Ce calcul ne repose en effet que sur une seule équation alors que la méthode initiale en comporte plusieurs. Par ailleurs, les résultats ne sont plus bornés entre 0 et 1 comme dans l'approche TRIADE mais sont dans la gamme [-1 ; 1]. Plus la valeur produite pour un paramètre est proche de 0, plus ce dernier va renseigner sur une absence d'altération par comparaison à la référence choisie. A l'inverse, plus la note tendra vers -1, et plus le sol sera considéré comme *en meilleur état* que la référence. A l'autre extrémité du gradient, plus la note tendra vers +1, et plus sol sera considéré comme dégradé (comme dans l'approche TRIADE classique).

Le rendu TRIADE_{DIVA} fournit deux types de visuels :

- Le premier fournit une vision synthétique de l'état de santé du sol par comparaison à un état dit « de référence » (local ou issue de la littérature) ou à un état « dégradé » (ex. état initial dans le cadre d'une opération de réhabilitation). La comparaison à l'état de référence traduit le travail qu'il reste encore à faire pour atteindre le niveau de référence, tandis que la comparaison à l'état dégradé traduit ce qui a déjà été obtenu dans le cadre d'une réhabilitation.
- Le second – plus détaillé – prend la forme d'une « diagramme de l'état de santé du sol » qui permet d'illustrer à l'instant T l'état de différentes fonctions et niveaux de biodiversité dans le sol par comparaison à un état de référence ou à un état dégradé, au choix de l'utilisateur (**Fig. 1**).

Le projet DIVA a également permis d'avancer sur l'écologie des sols. La santé d'un écosystème peut être jugée selon trois propriétés : la structure de la communauté d'organismes vivants (i.e. la richesse en espèces et leurs interactions), les fonctions écosystémiques (comme par exemple le recyclage de la matière organique), et enfin sa stabilité face à une perturbation (associée à des notions de redondance fonctionnelle et de complexité des réseaux trophiques). Les résultats du projet ont montré que ces trois propriétés de l'écosystème étaient très fortement dépendantes des conditions physico-chimiques des sols, du niveau de contamination mais également du temps écoulé depuis la réhabilitation écologique sur nos sites.

Ainsi, les sites de Saint Chamond et Pierre-Bénite, peu pollués et par ailleurs très fertiles (e.g. fortes teneurs en azote, phosphore, capacité d'échange cationique élevée) présentent des résultats satisfaisants au regard de la diversité de la faune du sol et des fonctions exprimées (e.g. microrespiration et activités enzymatiques associées aux cycles du carbone, de l'azote, du phosphore et du soufre fortes). A l'inverse, le site de Bordeaux, très pollué et peu fertile (e.g. faibles teneurs en azote, phosphore, capacité d'échange cationique très faible), présente une plus faible diversité spécifique ainsi qu'une fonctionnalité plus limitée. Malgré des divergences fortes entre ces différents sites, ils présentent tous un niveau de stabilité globalement beaucoup plus faible que les trois sites de référence non perturbés au cours de ces 10 dernières années (selon l'indicateur nématodes).

Ces résultats soulignent la nécessité de prendre en compte les conditions physico-chimiques des sols (diagnostic agro-pédologique en complément du diagnostic de pollution) ainsi que la temporalité de la réhabilitation écologique lors de la mise en application de l'outil TRIADE, pour isoler les effets liés

spécifiquement à la contamination de ceux liés à la nature initiale du sol. Ils orientent également sur les critères prioritaires de recherche du site de référence (i.e. absence de perturbation récente, conditions édapho-climatiques similaires, usage visé analogue).

Concernant les indicateurs en tant que tels, le travail réalisé a permis de mettre en lumière des corrélations fortes entre certains indicateurs associés à une fonction donnée (par ex. recyclage de la matière organique) laissant ainsi une marge de manœuvre aux futurs utilisateurs de l'outil dans le choix des techniques employées. Les mesures basées sur l'ADNe semblent par ailleurs prometteuses dans leur capacité à suivre la dynamique de la biomasse microbienne, l'évaluation de la diversité fonctionnelle ou spécifique. Néanmoins, cette approche requiert l'élaboration de référentiels nationaux partagés pour une pleine opérationnalité.

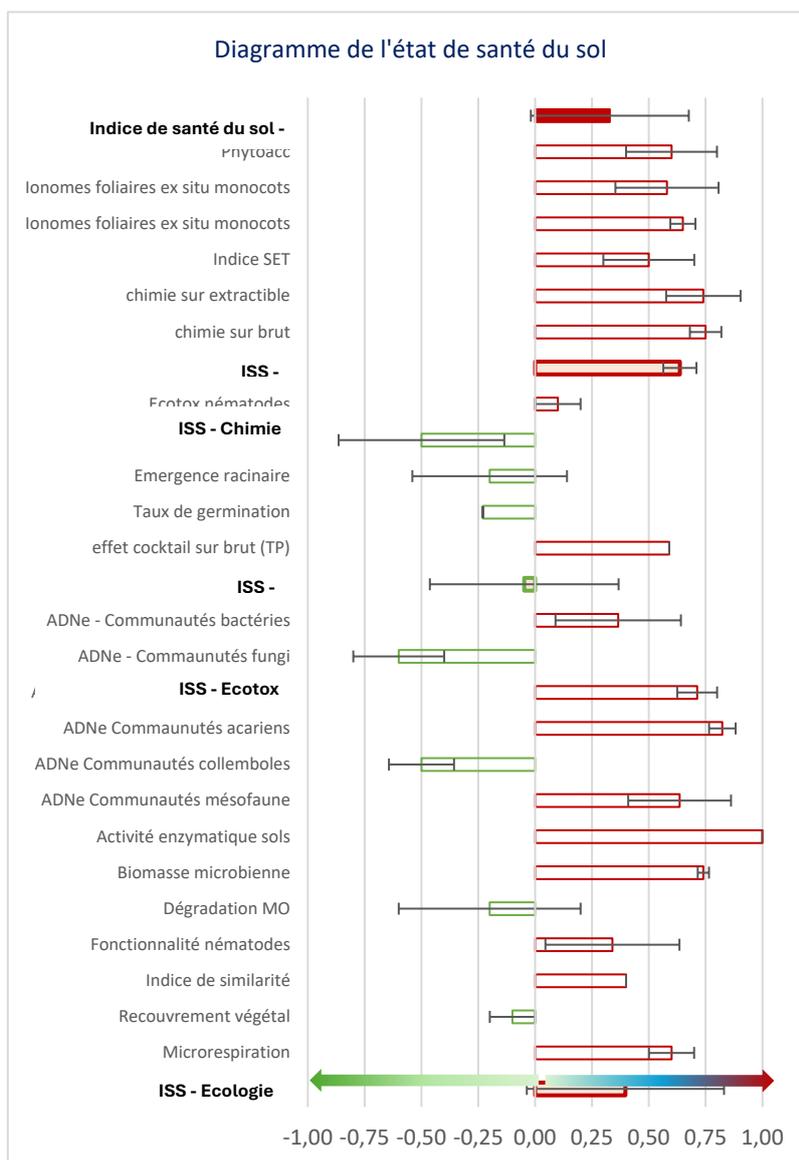


Figure 1 – Exemples d'un « diagramme de l'état de santé du sol » fourni par l'approche TRIADE DIVA. La flèche rouge indique l'intensité de la dégradation d'une fonction ou d'un niveau de biodiversité, la flèche verte indique l'intensité de leur amélioration (Ind. = Indice)

Conclusions et perspectives

La méthodologie TRIADE a pour objectif de fournir une information synthétique sur l'impact ecotoxicologique de la chimie d'un sol (ex. pollution dans des sols urbains), ainsi que sur sa capacité à accueillir le vivant. Le projet DIVA propose une simplification des calculs de la TRIADE pour évaluer la santé et la qualité d'un sol. Ces calculs produisent aussi un « diagramme de l'état de santé d'un sol » qui retranscrit l'état des différentes fonctions et niveaux de biodiversité du sol à l'instant T. Le projet a également permis d'apporter des enseignements sur l'influence croisée de la chimie et de l'agro-pédologie du sol sur la réponse des paramètres écologiques dans le cadre d'une ERE. Cette alternative à l'approche TRIADE permet désormais non seulement de diagnostiquer l'état d'un sol contaminé, son risque associé, mais également de monitorer les bénéfices apportés au cours d'une opération de réhabilitation. Dans la continuité de ce projet, il apparaît aujourd'hui nécessaire de définir des gammes de valeurs attendues sur les paramètres ecotoxicologiques et écologiques des sols urbains, notamment en fonction des conditions édapho-climatiques. Ces gammes devront être construites en croisant des gradients de contamination, de fertilité et le temps écoulé depuis la réhabilitation écologique. Une fois établies, elles permettront de mieux cadrer la notion d'*état de référence* (couple habitat/usage), notion primordiale pour réaliser de manière correcte une ERE TRIADE. A l'heure actuelle, le choix de ces états dits *de référence* est encore parfois arbitraire, et peut par conséquent générer des conclusions biaisées.

Références

ISO (2017). "Soil quality - Procedure for site-specific ecological risk assessment of soil contamination (TRIAD approach)." ISO 19204

Jensen, J. and Mesman, M. (2006). "Ecological Risk Assessment of Contaminated Land." 138 p.

Pucheux, N ; Andres, S and Pandard, P. (2017) Méthode normalisée triade d'évaluation du risque pour les écosystèmes du sol au travers d'un cas appliqué. Rapport Scientifique INERIS, 2016- 2017, 61 p.

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier Jean Yves Richard (SARPI VEOLIA) et Thomas Pommier (SETEC, anciennement chercheur INRAE au laboratoire d'Ecologie Microbienne - UMR1418) pour leur contribution aux premières phases de ce projet.

Diagnostic écologique des sols contaminés: utiliser les traits fonctionnels des bactéries et invertébrés

Florence Maunoury-Danger^{1*}, Vincent Laderriere¹, Aliénor Duval¹, Margot Jans¹, Delphine Aran¹, Frédéric Boyer², Juliane Capelle¹, Aurélie Cébron³, Anne-Justine Engel¹, Augustine Fulcrand¹, Charlotte Nousse¹, Benjamin Pey⁴, Philippe Usseglio-Polatera¹

¹ LIEC – UMR 7360 CNRS-Université de Lorraine Campus Bridoux, 8 rue du Général Delestraint 57070 Metz – France

² Laboratoire d'Écologie Alpine - UMR5553 CNRS - Université Grenoble Alpes - USMB - 38041 Grenoble Cedex 9 - France

³ LIEC – UMR 7360 CNRS-Université de Lorraine - FST, Bd des Aiguillettes, BP70239, 54506 Vandoeuvre-les-Nancy– France

⁴ Laboratoire Ecologie Fonctionnelle et Environnement - ENSAT, Avenue de l'Agrobiopole, BP 32607 – Toulouse - France

*Contact : florence.maunoury-danger@univ-lorraine.fr

Résumé

La contamination métallique des sols peut entraîner des modifications de la structure taxonomique, mais également du fonctionnement des communautés biologiques. Si des outils évaluant l'état des sols existent déjà, ils sont (i) surtout basés sur des indicateurs physico-chimiques (donc peu aptes à décrire les effets biologiques de la contamination), (ii) souvent focalisés sur l'évaluation de l'effet de pratiques agricoles (donc difficilement transposables au diagnostic écologique de sols contaminés par des activités industrielles) ou (iii) uniquement adaptés à l'évaluation du niveau de toxicité d'un contaminant unique (donc peu aptes à déconvoluer les effets de contaminations plus complexes, dans des sols hétérogènes où de nombreuses communautés interagissent). Évaluer efficacement les conséquences de la contamination métallique du sol, nécessite donc le développement d'outils de diagnostic nouveaux, capables de témoigner efficacement du niveau d'impact écologique des contaminants sur les sols, en basant leur diagnostic sur l'examen simultané de critères taxonomiques (basés sur l'identité et l'abondance des taxons) et fonctionnels (basés sur les traits biologiques des taxons), observés sur plusieurs compartiments biologiques. Dans ce projet, nous proposons le développement d'un outil diagnostique, basé sur une méthode d'apprentissage automatique, utilisant un large panel de métriques calculées sur les communautés d'invertébrés et de bactéries du sol, pour évaluer la probabilité d'un impact significatif sur l'une ou l'autre de ces communautés (i) de la contamination métallique dans son ensemble et/ou (ii) de certains métaux ou sein du cocktail de contaminants.

Introduction

La contamination métallique du milieu entraîne de profondes modifications dans la structure taxonomique des assemblages d'organismes terrestres (Lucisine et al. 2015). Malgré ces modifications de structure taxonomique au sein des communautés, les fonctions qu'elles assurent dans les systèmes ne sont pas obligatoirement altérées (Lecerf et al. 2021, Alric et al. 2021). Une des hypothèses envisageables est celle d'une redondance fonctionnelle (plusieurs espèces peuvent assurer la même fonction) qui permettrait de compenser « fonctionnellement » la régression - voire la disparition - de certaines des espèces assurant une fonction déterminée au sein de la communauté d'origine avant contamination.

Les approches basées sur les traits fonctionnels permettent de faire le lien entre diversité taxonomique, diversité fonctionnelle et fonctionnement de l'écosystème. Les traits sont des caractéristiques bien définies et mesurables, généralement, à l'échelle individuelle et utilisées de manière comparative entre espèces (McGill et al. 2006). Ils sont qualifiés de « fonctionnels » lorsqu'ils concernent des caractéristiques morphologiques, physiologiques, phénologiques et comportementales qui ont un effet indirect sur la « fitness » des organismes (Pey et al., 2014). La prise en compte des traits fonctionnels contribue à une meilleure compréhension des

réponses d'un compartiment biologique (e.g. les invertébrés) aux changements environnementaux naturels ou anthropiques et de l'impact de ces changements sur l'écosystème. Elles ont déjà permis de montrer l'homogénéisation fonctionnelle des communautés d'organismes terrestres entraînée par l'urbanisation (McKinney 2006, Aronson et al. 2016) ou celle de communautés d'invertébrés de cours d'eau entraînée par l'acidification ou une contamination organique (Mondy & Usseglio-Polatera 2014).

De nombreux auteurs ont souligné le besoin de développer des outils de diagnostic capables de démêler plus efficacement les impacts respectifs de multiples pressions sur les communautés (Feld et al. 2016 ; Pistocchi et al. 2017 ; Baattrup-Pedersen et al. 2019; Alric et al. 2021). Or, de tels outils sont encore peu développés pour l'évaluation et la surveillance de l'état écologique des sols. De plus, les indicateurs suivis en routine témoignent essentiellement des conditions physico-chimiques des sols et intègrent peu, pour l'instant, des métriques fonctionnelles ou l'identité des taxons biologiques impliqués. Quant aux outils permettant de caractériser l'impact de contaminants dans les sols, ils sont majoritairement déployés pour quelques espèces modèles, le plus souvent en conditions de laboratoire, éloignées des réalités du terrain. Dans les milieux aquatiques, certains outils reposant sur l'utilisation de combinaisons variées de traits fonctionnels d'un compartiment biologique donné [e.g. les diatomées (Larras et al. 2017), les macroinvertébrés benthiques (Mondy & Usseglio-Polatera 2013) ou les poissons (Dézerald et al. 2020)] ou de plusieurs compartiments biologiques considérés simultanément (Alric et al. 2021), ont déjà prouvé leur efficacité dans l'évaluation du risque d'altération d'origine anthropique. Ces approches ont cependant très rarement été appliquées à l'écosystème sol et n'ont jamais été réalisées en prenant en compte simultanément les communautés d'invertébrés et de bactéries. En effet, ces deux communautés sont fortement impliquées dans la plupart des fonctions biologiques essentielles d'un sol et dans les cycles biogéochimiques : décomposition des matières organiques, structuration et bioturbation des sols, régulation des biocénoses, nutrition des plantes, altération des minéraux ou équilibres gazeux (e.g. Coughlan 1985 ; Zimmer and Topp 1998).

Avec l'invention de l'amplification par qPCR de l'ADN et le développement d'amorces, le séquençage est devenu fondamental pour l'identification des espèces. L'approche, appelée « DNA barcoding » (Hebert et al. 2003) permet l'identification simultanée de plusieurs taxons (Taberlet et al. 2012) à partir de l'analyse des traces ADN laissées par ces taxons dans leur environnement (= ADN environnemental ou ADNe). L'utilisation de l'ADNe permet une analyse non destructive, rapide et standardisée de la distribution des espèces et se montre particulièrement importante dans la détection des espèces rares et/ou de petite taille. Même si cet outil est prometteur dans l'évaluation de la biodiversité, il présente néanmoins de nombreuses limites à son utilisation en routine pour la biosurveillance, notamment concernant les macro-organismes : la représentativité des traces d'ADN dans le sol varie d'un taxon à l'autre, la qualité de l'ADN obtenu n'est pas toujours optimale, les bases de données de références taxonomiques sont souvent incomplètes et leur niveau d'information est très différent selon les taxons.

Dans le projet DiagnoTraits (2021-2025), financé par l'ADEME, en combinant une approche taxonomique et fonctionnelle des communautés de bactéries et d'invertébrés, nous souhaitons répondre à trois objectifs principaux :

1) Identifier les réponses des communautés bactérienne et d'invertébrés du sol aux contaminations

métalliques : nous proposons d'utiliser une approche multi-trait afin de comparer les réponses taxonomiques et fonctionnelles de ces deux compartiments biologiques à la contamination métallique du sol. Nous faisons l'hypothèse que la contamination sélectionne des taxons adaptés à cette contrainte et que ces taxons présentent des caractéristiques fonctionnelles leur permettant de tolérer cette contrainte.

2) Proposer un outil diagnostique : nous proposons le développement d'un outil de diagnostic écologique permettant d'évaluer la probabilité d'impact significatif d'une contamination métallique sur les communautés d'invertébrés et bactériennes des sols. Les modèles constitutifs de l'outil, basés sur une technique de machine learning (forêts d'arbres conditionnels) évalueront la probabilité d'impact significatif de la communauté étudiée par une contamination métallique (ou certains groupes de métaux au sein de cette contamination). Cet outil a pour vocation à être transféré largement à destination des acteurs des sites et sols pollués, à l'issue du projet.

3) Evaluer le potentiel d'identification des invertébrés par l'analyse de l'ADNe du sol : Dans ce contexte de contamination métallique des sols, nous prévoyons de comparer l'efficacité respective de l'identification taxonomique des invertébrés sur des critères morphologiques versus le séquençage de l'ADN environnemental, dans leur capacité à fournir un diagnostic pertinent de la contamination.

Matériel et méthodes

Sélection des sites et caractérisation de la contamination métallique :

Dans la région Grand Est, la contamination métallique des sols est le plus souvent liée à l'importante activité sidérurgique passée. Il s'agit d'une contamination "âgée", c'est-à-dire datant de plusieurs dizaines d'années qui concerne de nombreux sites. On estime à 350 le nombre de friches industrielles en Lorraine, réparties sur une surface de 6 à 8000 ha ("BASOL" 2016 ; DREAL 2018). Du fait de processus variés utilisés dans l'industrie sidérurgique, il existe une grande diversité de situations correspondant à des niveaux de contamination métallique du sol plus ou moins élevés, qui a été prise en compte dans la sélection de 40 sites (incluant des sites non contaminés) caractérisés et échantillonnés au cours du projet.

Afin de caractériser le gradient de pression métallique, plusieurs indices ont été calculés à partir des teneurs totales en métaux, en prenant en compte leur nature, leur gamme de concentrations dans le pool de sites, leur écotoxicité et le fond géochimique. Ces différents indices, ainsi que les variables environnementales permettant de rendre compte du couvert végétal (couvert arboré ou herbacé, biomasse végétale) et des caractéristiques pédologiques des sols (pH, granulométrie, C :N, éléments majeurs...), ont été utilisés pour définir une typologie des 40 sites de l'étude.

Collecte des organismes (bactéries & invertébrés) :

Au sein de chaque site, 3 sous-sites de 16 m² (4m x 4m), présentant des caractéristiques similaires (couvert, niveau de contamination...), ont été identifiés. Sur chaque sous-site, 4 pièges Barber ont été placés pendant 1 semaine afin d'échantillonner la faune épigée et 2 monolithes de sol (25 x 25 x 20 cm) ont été extraits et triés manuellement pour échantillonner la faune endogée. Un échantillon composite de sol a été réalisé afin d'en extraire les traces ADN laissées par les invertébrés dans le sol (ADNe). Un deuxième échantillon composite a été prélevé et tamisé à 2 mm en vue de l'extraction de l'ADN bactérien. Le plan d'échantillonnage a permis la récolte de 480 pièges Barber, 240 monolithes, 120 échantillons de sol pour l'ADNe et 120 échantillons de sol pour l'ADN bactérien.

Identification des organismes :

Pour caractériser les communautés bactériennes, la méthode utilisée, décrite en détail dans Lemmel et al. (2019), consiste en une extraction de l'ADN total à partir des prélèvements de sol congelés, une amplification par PCR de la région V3-V4 du gène codant pour l'ARNr 16S bactérien et un séquençage MiSeq (Illumina), suivi du traitement des séquences et d'une affiliation taxonomique des OTUs grâce à la base de séquences SILVA.

Pour caractériser les communautés d'invertébrés à partir de sol, l'ADN environnemental a été extrait à partir de chaque prélèvement de sol en utilisant le protocole décrit dans Zinger et al. (2016). Cet ADN a été amplifié puis séquencé. Après traitement, l'affiliation des séquences obtenues a été réalisé à partir de bases de références (e.g., Genbank).

Pour caractériser les communautés d'invertébrés récoltées à l'issue du tri des monolithes de sol, et à partir de pièges Barber, les organismes récoltés ont été identifiés sur la base de critères morphologiques classiques, au moyen de clés de détermination taxonomiques.

Etude des traits fonctionnels des communautés identifiées :

Des bases de données, agrégeant l'information disponible sur les traits fonctionnels des invertébrés d'une part et des bactéries d'autres part, ont été élaborées en compilant de l'information déjà disponible dans les bases de données existantes (e.g. BETSI, Bactotraits) et de l'information obtenue par une analyse complémentaire de la littérature. Pour les deux communautés, les traits d'intérêt ont été sélectionnés en fonction de leur rôle potentiel dans la tolérance des organismes à la contamination métallique. Chaque trait est décrit par un ensemble de modalités. Pour chaque taxon, un score est alors alloué à chacune de ces modalités traduisant le degré d'utilisation de cette modalité par ce taxon. Les scores alloués à un taxon sur l'ensemble des modalités d'un trait sont ensuite exprimés en fréquences relatives d'utilisation.

Pour une communauté donnée de bactéries ou d'invertébrés, sur chaque sous-site, un profil moyen pondéré (par une expression de leurs effectifs) est calculé pour chaque trait. L'ensemble de ces profils moyens décrit la structure fonctionnelle de la communauté.

Analyse des données taxonomiques et fonctionnelles et construction des modèles de probabilité d'impact, constituant l'outil diagnostique :

Pour construire l'outil, des modèles seront construits pour chaque communauté (bactéries & invertébrés), pour un diagnostic global de la contamination. Pour un diagnostic plus précis de la contamination métallique, nous explorerons la possibilité de construire des modèles évaluant spécifiquement l'impact sur les communautés invertébrées et bactériennes de certains groupes de métaux (e.g. métaux présentant un mode d'action commun). Chaque modèle sera basé sur une – ou un ensemble de – forêt(s) aléatoire(s) (Breiman 2001 ; Prasad et al. 2006) d'arbres conditionnels (CTF, Conditional Tree Forest), capables d'étudier des relations complexes et potentiellement non linéaires. *Nota bene : cette partie n'est pas encore mise en œuvre au moment de l'appel à communications, mais est l'objectif principal des 6 prochains mois.*

Résultats et discussion

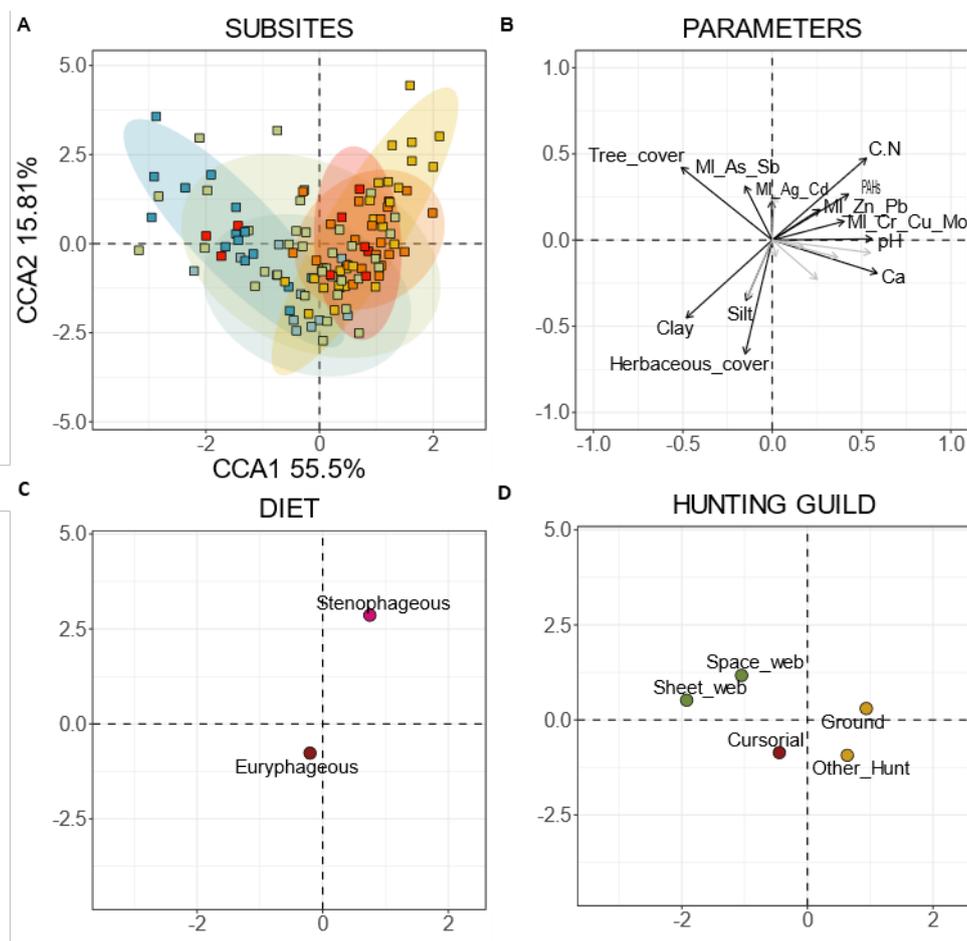


Figure 1 : Analyse canonique des correspondances (CCA) permettant d'étudier les liens entre variables environnementales et structure fonctionnelle des assemblages d'araignées dans 40 sites (= 120 sous-sites) échantillonnés : (A) Positions des communautés des 120 sous-sites dans le premier plan factoriel de la CCA (la gradient de couleur représente le gradient de contamination métallique depuis le moins contaminé en bleu au plus contaminé en rouge), (B) poids canoniques des variables environnementales contribuant à la définition des deux premiers axes factoriels (Perc = pourcentage ; Temp_sol_moy = température du sol, Biomasse_vg = biomasse végétale), (C) Positions dans le premier plan factoriel des modalités décrivant les traits « Régime trophique (DIET) » et (D) « Mode de chasse ».

Les premiers résultats obtenus pour les bactéries et les deux groupes taxonomiques (Araignées, Coléoptères) les plus abondants et diversifiés au sein de nos assemblages faunistiques, ont permis la mise en évidence, dans les deux communautés, de taxons surabondants ou, au contraire, absents dans les milieux contaminés, et d'espèces indicatrices de chaque type de milieu.

Certaines combinaisons de traits paraissent effectivement sélectionnées par la contamination métallique des sols. Par exemple, la figure 1 montre que les araignées des sites contaminés sont plutôt sténophage (i.e. elles consomment une faible diversité de proies) et qu'elles ne construisent pas de toile, mais qu'elles préfèrent se réfugier dans la végétation ou sous l'écorce.

La présentation sera l'occasion de (i) décrire et d'interpréter ces résultats plus en profondeur, en comparant notamment les réponses obtenues pour les deux communautés étudiées, (ii) de détailler la démarche envisagée pour utiliser les données taxonomiques et fonctionnelles dans la construction des modèles constitutifs de l'outil diagnostique. L'utilisation pratique de l'outil nécessitera simplement de l'opérateur la réalisation d'un échantillon de la communauté d'invertébrés et d'un échantillon de la communauté bactérienne selon les protocoles décrits dans le M&M. Il est à noter que, une fois construits et calibrés, les modèles ne nécessiteront aucune mesure physico-chimique sur les sols testés pour être utilisés ; et (iii) de discuter de la pertinence de l'utilisation de l'ADNe comme alternative au prélèvement d'organismes vivants (invertébrés du sol notamment, dont certaines espèces rares sont à haute valeur patrimoniale) dans le cadre de ce type de diagnostic environnemental.

Conclusions et perspectives

Le caractère innovant de ce projet est principalement lié aux points suivants: (i) l'étude simultanée des communautés d'invertébrés et de bactéries du sol, (ii) l'utilisation simultanée, encore rarement appliquée aux sols, d'une approche taxonomique et d'une approche fonctionnelle basée sur les combinaisons de traits sélectionnés au sein des communautés, (iii) le développement d'un outil permettant un diagnostic « multi-critères » de la contamination métallique du sol via deux compartiments biologiques différents, ce qui n'a encore jamais été réalisé sur la base des informations apportées par les bactéries et les invertébrés du sol, en France, comme à l'étranger et (iv) la-comparaison de l'efficacité relative de deux méthodes d'identification taxonomique des invertébrés du sol (méthode « morphologique » versus séquençage des traces ADN laissées dans le sol), dans leur capacité à contribuer à un diagnostic efficace d'une contamination métallique.

Les principales perspectives de ce projet seront de développer l'outil de diagnostic sur une plus large échelle spatiale (passer de l'échelle régionale à l'échelle nationale, par exemple) et d'y intégrer d'autres pressions anthropiques (autres contaminants, tassement des sols ou niveaux de connectivités, par exemple).

Références

- Alric, B., Dézerald, O., Meyer, A., Billoir, E., Coulaud, R., Larras, F., Mondy, C. P., Usseglio-Polatera, P. (2021). How recent diatom-, invertebrate- and fish-based tools can support the ecological diagnosis of rivers in a multi-pressure context: temporal trends over the past two decades in France. *Science of the Total Environment*, 762, 143915.
- Aronson et al. (2016) Hierarchical Filters Determine Community Assembly of Urban Species Pools. *Ecology*, 97, 2952-2963.
- Baattrup-Pedersen, A., Larsen, S. E., Rasmussen, J. J., & Riis, T. (2019). The future of European water management: Demonstration of a new WFD compliant framework to support sustainable management under multiple stress. *Science of the Total Environment*, 654, 53–59.
- Coughlan, M.P., 1985. The properties of fungal and bacterial cellulases with comment on their production and application. *Biotechnol. Genet. Eng. Rev.* 3, 39–109.
- Dézerald, O., Mondy C. P., Dembski, S., Kreutzenberger, K., Reyjol, Y., Chandesis, A., Valette, L., Brosse, S., Toussaint, A., Belliard, J., Merg, M. L., & Usseglio-Polatera, P. (2020). A diagnosis-based approach to assess specific risks of river degradation in a multiple pressure context: insights from fish communities. *Science of the Total Environment*, 734, 139467.
- Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, deWaard JR (2003) Biological identification through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 270, 313-321.
- Feld, C. K., Segurado, P., & Gutiérrez-Cánovas, C. (2016). Analysing the impact of multiple stressors in aquatic biomonitoring data: A 'cookbook' with applications in R. *Science of the Total Environment*, 573, 1320–1339. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.06.243.
- Larras F., Coulaud R., Gautreau E., Billoir E., Rosebery J., & Usseglio-Polatera P. (2017) Assessing anthropogenic pressures on streams: A random forest approach based on benthic diatom communities. *Science of the Total Environment*, 586, 1101–1112
- Lecerf A, Cebon A, Gilbert F, Danger M, Roussel H, Maunoury-Danger F. (2021) Plant litter decomposition as an indicator of the ecological balance of contaminated soils. *Ecological Indicators* 125 (2021) 107554.
- Lucisine P, Lecerf A, Danger M, Felten V, Aran D, Auclerc A, Gross EM, Huot H, Morel JI, Muller S, Nahmani J, Maunoury-Danger F. (2015) Litter chemistry prevails over litter consumers in mediating effects of past steel industry activities on leaf litter decomposition. *Science of the Total Environment*. 537, 213-224.
- McGill B.J., Enquist B.J., Weiher E. & Westoby M. (2006) Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends in Ecology and Evolution*, 21, 178-185.
- McKinney M (2006) Urbanization as a major cause of biotic homogenization. *Biological Conservation*, 127, 247–260.
- Mondy C.P., Usseglio-Polatera P. (2013) Using conditional tree forests and life history traits to assess specific risks of stream degradation under multiple pressure scenario. *Science of the Total Environment*, 461–462, 750–760.
- Mondy C.P., Usseglio-Polatera P. (2014) Using fuzzy-coded traits to elucidate the non-random role of anthropogenic habitat alteration in functional homogenization. *Freshwater Biology* , 59, 584-600.
- Pey, B., Nahmani, J., Auclerc, A., Capowiez, Y., Cluzeau, D., Cortet, J.Ô., Decaëns, T., Deharveng, L., Dubs, F., Joimel, S., Briard, C., Grumiaux, F., Laporte, M.A., Pasquet, A., Pelosi, C., Pernin, C., Ponge, J.F., Salmon, S., Santorufo, L., Hedde, M., 2014b. Current use of and future needs for soil invertebrate functional traits in community ecology. *Basic Appl. Ecol.* 15, 194–206.
- Pistocchi, A., Udias, A., Grizzetti, B., Gelati, E., Koundouri, P., Ludwig, R., Papandreou A., & Souliotis, I. (2017). An integrated assessment framework for the analysis of multiple pressures in aquatic ecosystems and the appraisal of management options. *Science of the Total Environment*, 575, 1477–1488.
- Taberlet P, Coissac E, Hajibabaei M, Rieseberg LH (2012a) Environmental DNA. *Molecular Ecology*, 21, 1789-1793.
- Zimmer, M., Topp, W., 1998. Microorganisms and cellulose digestion in the gut of the woodlouse *Porcellio scaber*. *J. Chem. Ecol.* 24, 1397-1408.

Remerciements

Les auteurs remercient les pôles « terrain », « chimie » et « vivant » ainsi que le service de gestion du LIEC pour leur soutien technique et administratif. Ces travaux sont inclus dans le programme scientifique du Consortium de recherche GISFI dédié à la connaissance et au développement des technologies de requalification des territoires dégradés (<http://www.gisfi.univ-lorraine.fr>).