

PRESENTATION DE L'INDICATEUR

Les bactéries sont contenues dans la fraction organique du sol. Elles sont sans conteste, les plus nombreuses des microorganismes et représentent une très forte diversité d'espèces. On compte en moyenne 109 bactéries par gramme de sol sec, dont 0,1 à 10 % sont cultivables [1]. Les bactéries participent au fonctionnement et à la fourniture de services écosystémiques des sols. La grande diversité d'espèces bactériennes leur confèrent une diversité de fonction. Cependant, la complexité de leur identification dans leur environnement liée

en grande partie aux limites des actuelles techniques méthodologiques, rend difficile la mise en lien structure-fonction de ces communautés. L'étude des activités métaboliques des bactéries cultivables par la mesure de la consommation d'un ensemble de substrats carbonés au travers du système Biolog permet de répondre en partie à cette problématique. Ce système a démontré son efficacité sur un grand nombre de milieux contrastés, et notamment les sols [2,3].

COMMENT MESURER LA BIOMASSE MOLÉCULAIRE FONGIQUE ?

PRÉLÈVEMENT DE SOL :

La période recommandée de prélèvement du sol pour la mesure de ce biomarqueur est le printemps ou l'automne. En matière d'échantillonnage dans le sol, l'horizon 0-20cm est habituellement utilisé. De façon générale, l'échantillonnage consiste en un prélèvement d'environ 500g de sol à la tarière sur l'horizon de surface. Chaque échantillon est un composite de 5 carottes de sol prélevées à la tarière au sein d'une zone de prélèvement circulaire de 2 mètre de diamètre. Les échantillons sont tamisés/homogénéisés à 2mm. Le stockage est déconseillé, l'idéal est de travailler sur sol frais.

ANALYSE:

La diversité métabolique potentielle des bactéries cultivables du sol est appréciée au travers des EcoPlaques du système Biolog de 96 puits. Ce dispositif a été adapté pour l'étude des bactéries de l'environnement et standardisé pour les bactéries du sol [4]. Le système Biolog est utilisé à des fins de comparaison des communautés bactériennes plus que de leur caractérisation.

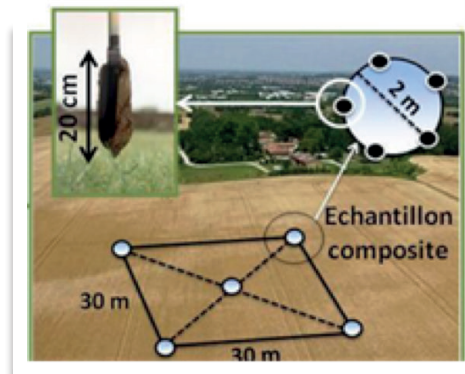
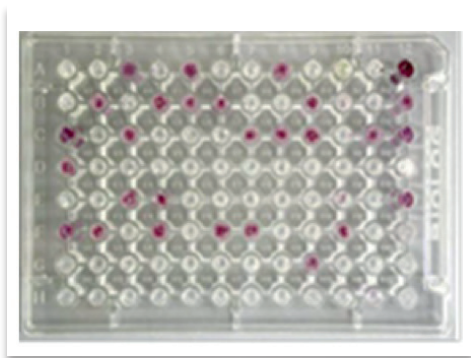


Figure 1.
Représentation schématique de la stratégie d'échantillonnage du sol

Figure 2.

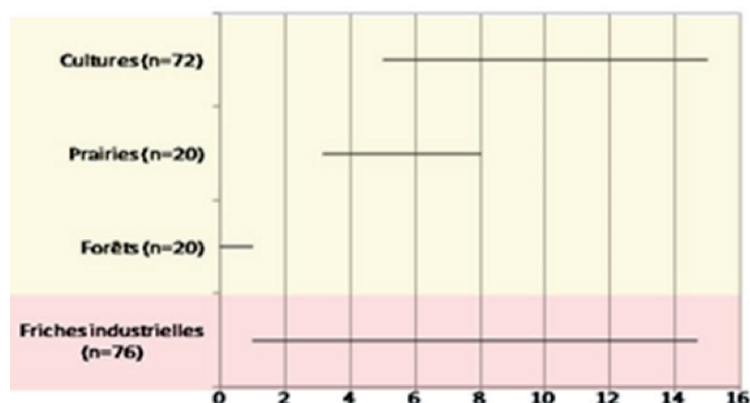
Ecoplate du système Biolog. Les substrats catabolisés sont indiqués par la coloration violette dans les puits.



La solution bactérienne du sol est incubée dans l'obscurité durant 48 heures à 20°C dans des puits Biolog contenant 31 substrats carbonés plus ou moins complexes issus de six familles carbonées (amines, acides aminés, hydrates de carbone, sources de carbones complexes, acides carboxyliques, phosphate de carbones). L'activité des bactéries cultivables en fin d'incubation repose sur leur capacité à métaboliser un certain nombre de ces substrats carbonés révélée par un indicateur coloré de développement microbien aérobie (sel de tétrazolium) lors de la mesure dans un lecteur de plaque automatique jumelé au logiciel MI340 convertisseur des données en fichier Excel. L'intensité de la coloration violette obtenue lors de la respiration bactérienne est proportionnelle à la consommation du substrat. La diversité métabolique est appréciée au travers (i) d'informations globales de l'activité: la richesse fonctionnelle (R) définie par le nombre de puits colorés et l'AWCD (Average Well Color Development), qui est l'activité métabolique moyenne de tous les puits de la microplaque, et (ii) d'informations plus spécifiques sur les substrats métabolisés (nature du substrat, proportion).

La diversité fonctionnelle des bactéries cultivables, présentée dans cet exemple par la richesse fonctionnelle (R), indique de forte variation de ce paramètre observée principalement dans les friches industrielles et dans les cultures. Ce constat est probablement à mettre en lien avec les fortes hétérogénéités des modalités (sites).

Figure 3.
Game de variation de la richesse fonctionnelle (R) sur les sites du programme Bioindicateur 2



INTERETS ET LIMITES DE L'INDICATEUR DIVERSITE TAXONOMIQUE MICROBIENNE



Intérêts

- l'indicateur permet de mettre en évidence des changements spatiaux et temporels d'une communauté bactérienne issus des différents environnements (sol, eaux, sédiments, biofilms,).
- permet souvent d'observer des effets liés aux modifications de l'occupation du sol et de son usage, aux contaminations métalliques et organiques, et aux modifications physico-chimiques des sols.



Limites

- Représentativité partielle des substrats utilisés par rapport à celles existantes dans le sol
- Données fournies conséquentes en termes de mise en forme et en traitement de données statistiques. Le temps passé dépendra du niveau d'expertise.
- La méthode reflète la diversité fonctionnelle potentielle uniquement des bactéries cultivables (soit 1 à 10% des bactéries totales du sol soit). Elle favorise les bactéries à croissance rapide.

DE LA RECHERCHE VERS L'APPLICATION

Les publications scientifiques portant sur la diversité fonctionnelle des bactéries du sol sont nombreuses, mais il n'existe pas à ce jour de référentiel.

La diversité métabolique potentielle permet une évaluation de l'impact de certaines activités anthropiques, telles que l'usage et l'occupation des sols.

RÉFÉRENCES ET CONTACTS

1. Torsvik, V., Daae, F.L., Sandaa, R., Ovreas, L., 1998. Novel techniques for analysing microbial diversity in natural and perturbed environments. *J. Biotechnol.* 64:53-62.
2. Plassart, P., Akpa Vincelas, M., Gangneux, C., Mercier, A., Barry, S., Laval, K., 2008. Molecular and functional responses of soil microbial communities under grassland restoration. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 127:286-293.
3. Frey, B., Kremer, J., Rüdte, A., Sciacca, S., Matthies, D., Lüscher, P., 2009. Compaction of forest soils with heavy logging machinery affects soil bacterial community structure. *Eur. J. Soil Biol.* 45:312-320.
4. Calbrix R, Laval K., Barry S., 2005. Analysis of the potential functional diversity of the bacterial community in soil: a reproducible procedure using sole-carbon-source utilisation profiles. *European Journal of Soil Biology* 41:11-20.

CONTACTS

Nadia LAURENT – UNILASALLE – Campus Rouen
Unité AGRI'TERR, 76134 Mont Saint Aignan – nlaurent@esitpa.fr