

Diversité métabolique potentielle

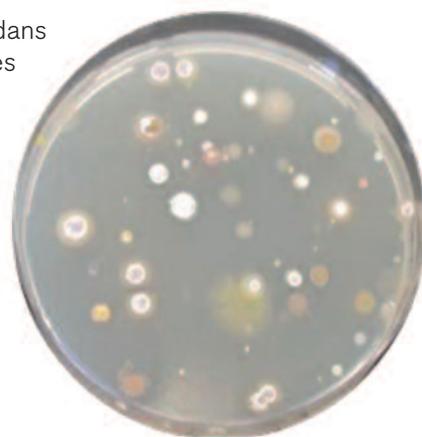
Nadia Laurent, Esitpa / Unité Agri'Terr / Equipe BioSol
 Contact : nlaurent@esitpa.org



DESCRIPTION DE L'INDICATEUR

Nom de l'indicateur : Diversité métabolique potentielle des bactéries cultivables du sol (DMP) représentée par la richesse fonctionnelle (RF : nombre de puits positifs) et l'activité métabolique globale de la plaque (AWCD).

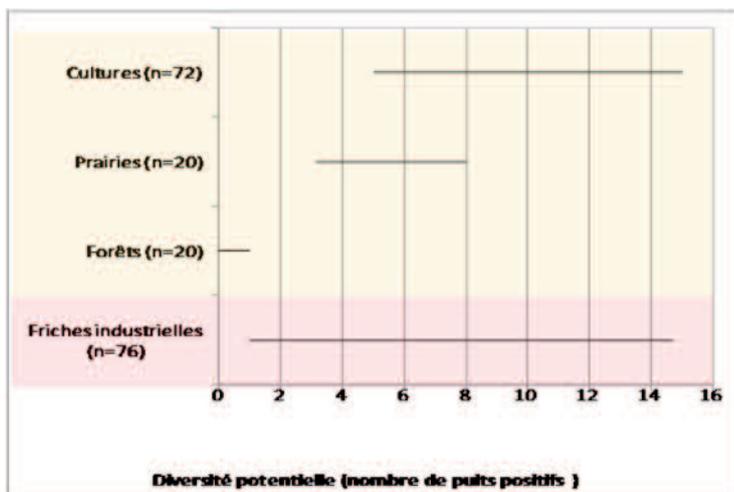
Rôle écologique de l'organisme testé : Les bactéries sont contenues dans la fraction organique du sol. Elles sont sans conteste, les plus nombreuses parmi les microorganismes et représentent une très forte diversité d'espèces. On compte en moyenne 10^9 bactéries par gramme de sol sec, dont 0,1 à 10 % sont cultivables. Les bactéries participent, au même titre que les champignons et les protozoaires, au fonctionnement et à la fourniture de services écosystémiques des sols. La grande diversité d'espèces bactériennes leur confèrent une diversité de fonction et permet ainsi d'occuper toutes les niches écologiques du sol. Elles peuvent également dans des conditions de milieu très variées, utiliser l'ensemble des substrats organiques présents ou apportés dans le sol, et même utiliser certains produits xénobiotiques.



Culture de bactéries sur gélose nutritive

Type d'indicateur : Biomarqueurs d'effet et d'exposition.

DESCRIPTION DE LA MÉTHODE



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

Gamme de variation de de la richesse fonctionnelle (RF) sur les sites du programme Bioindicateur2

1 Calbrix R, Laval K, Barray 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.

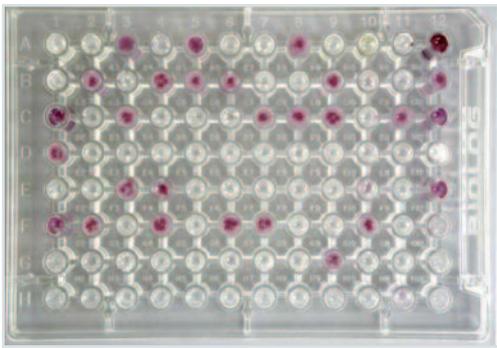
Normes et/ou protocoles de référence

Le dispositif Biolog a été adapté pour l'étude des bactéries de l'environnement et standardisé par Calbrix *et al*, (2005) pour les bactéries du sol.

Plan et méthode d'échantillonnage : En matière d'échantillonnage dans le sol, l'horizon 0-10cm est habituellement utilisé. La période recommandée de prélèvement du sol pour la mesure de ce biomarqueur est le printemps ou l'automne. De façon générale, l'échantillonnage consiste en un prélèvement d'environ 500g de sol à la tarière sur l'horizon de surface.

Stockage et pré-traitement des échantillons : Les échantillons sont tamisés/homogénéisés à 2mm. Le stockage est déconseillé, l'idéal est de travailler sur sol frais.

Description simplifiée de la méthode de mesure : Le système Biolog utilise des microplaques (Eco-Plate) de 96 puits prêts à l'emploi avec 31 substrats carbonés de 6 classes différentes (amines, hydrates de carbone, sources de carbones complexes, acides carboxyliques, acides aminés, phosphates de carbone). L'activité métabolique des bactéries cultivables repose sur leur capacité à métaboliser un certain nombre de substrats carbonés. Cette consommation est révélée par un indicateur coloré de développement microbien aérobie (sel de tétrazolium). L'intensité de cette coloration violette est proportionnelle à la consommation du substrat ; Elle est mesurée par spectrophotométrie à 590nm (avec le lecteur de microplaque et le logiciel Microlog™ System Release 4.0) et après une incubation de 48h à 20°C à l'obscurité.



Plaque Biolog

Estimation du temps : Il faut compter 1,5 jour équivalent temps plein pour réaliser les expérimentations pour 28 échantillons de sol.

Paramètres mesurés : Les mesures des densités optiques obtenues (DO) permettent de calculer :

- La richesse fonctionnelle (RF) définie par le nombre de puits positifs ($DO_{\text{puits}} - DO_{\text{initiale}} > 0,25$)
- L'AWCD (Average Well Color Development), représente l'activité métabolique moyenne des bactéries cultivables des sols ($\sum[(DO_{\text{puits}} - DO_{\text{initiale}})/31 \text{ (nombre de substrats total)}]$)

Parallèlement à la mesure de la DMP, des numérations bactériennes sont réalisées afin de déterminer l'abondance des bactéries cultivables dans les sols et s'assurer de l'homogénéité de la densité bactérienne inoculée dans chaque puit de la microplaque.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Utilisation d'un référentiel

Les publications scientifiques portant sur la diversité fonctionnelle des bactéries du sol sont nombreuses. Des ordres de grandeur en AWCD et en RF sont disponibles dans ces publications notamment pour les pollutions métalliques, l'usage et l'occupation des sols.

Disponibilité/accès à la base de données

Les laboratoires utilisant le dispositif Biolog possèdent leur propre base de données avec des valeurs seuils spécifiques en lien avec leurs conditions expérimentales. Compte tenu de la variabilité des protocoles, il est important de s'adresser au même laboratoire.

Informations complémentaires nécessaires

Les variables pédoclimatiques exercent une forte influence sur la diversité fonctionnelle des bactéries notamment la texture du sol, le pH, la teneur en matière organique du sol, les amendements organiques et les pollutions métalliques. L'utilisation et le mode d'occupation du sol impactent également ce biomarqueur.

EXEMPLE D'APPLICATION

Site QualiAgro : Amendements organiques des sols agricoles

Sur ce site, 5 traitements organiques sont étudiés : Fumier de bovins (FUM), Compost d'Ordures Ménagères Résiduelles (OMR), Compost de Biodéchets (BIO), Compost de Déchets Verts et Boues de stations d'épuration (DVB), Témoin sans apport organique (Témoin).

Modalités	Témoin	OMR	FUM	BIO	DVB
Teneur en matière organique (g/kg)	17,8 ± 1,8	21,5 ± 5,2	24,4 ± 1,4	25,4 ± 6,1	26,4 ± 3,0

Tableau 1 : teneurs en matière organique présente dans les traitements

L'effet de l'apport de produits résiduels organiques sur les bactéries cultivables et leur potentiel métabolique est présenté sur la figure 1.

La diversité des données sur les 4 blocs de chaque modalité ne permet pas d'observer des différences statistiquement significatives. Pourtant, les tendances observées montrent un accroissement de la richesse fonctionnelle dans les modalités ayant reçu des apports. Il semble que l'activité métabolique moyenne des bactéries cultivables ne soit pas influencée de la même manière en fonction de la nature des matières organiques apportées, ce qui est couramment rencontrés dans la littérature.

Les prélèvements réalisés au cours de cette campagne ont été peut-être un peu précoce dans la saison (mi mars) pour ce type d'indicateur.

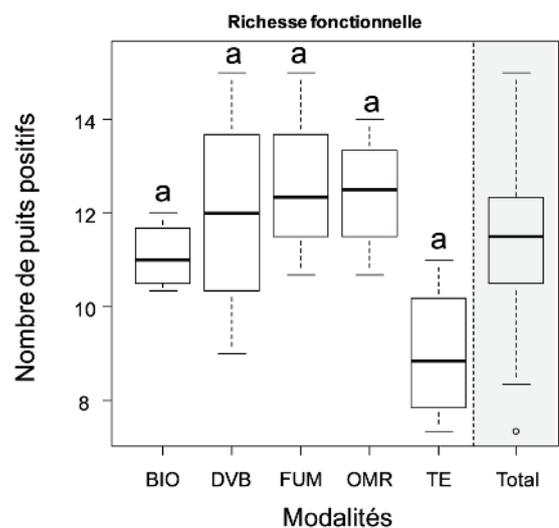
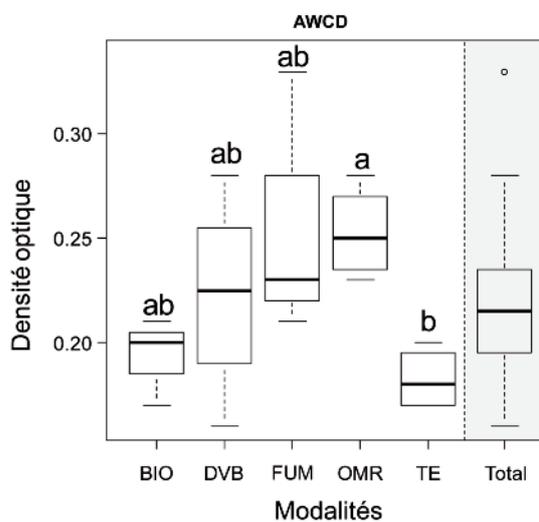
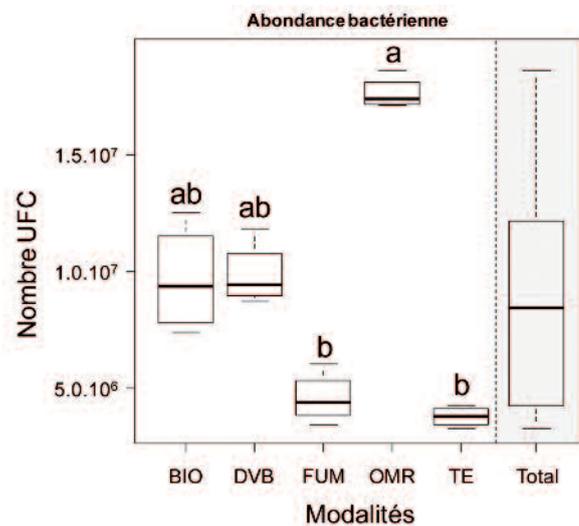


Figure 1 : Abondance, activité métabolique (AWCD) et richesse fonctionnelle- site Qualiagro. Des lettres distinctes indiquent une différence significative au seuil p<0,05

INTÉRÊTS ET LIMITES DE L'INDICATEUR

Avantages :

- La DMP permet de mettre en évidence des changements spatiaux et temporels d'une communauté bactérienne dans différents environnements (sol, eaux, sédiments, biofilms,...).
- La DMP 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.
- L'analyse détaillée du niveau de consommation des substrats carbonés permet d'apporter des informations précises sur la DMP.

Limites :

- Les substrats carbonés potentiellement consommés par les bactéries ne sont pas tous représentatifs de ceux présentés dans le sol (Tween 40 et 80 par exemple).
- Les données fournies présentent vite un volume conséquent en terme de mise en forme et en traitement de données statistiques. Le temps passé dépendra du niveau d'expertise attendu.
- La méthode reflète la diversité fonctionnelle potentielle des bactéries cultivables et non *in situ*, de plus, elle favorise les microorganismes à croissance rapide.



Unité Agri'Terr, équipe BioSol a comme objectif (1) la compréhension des déterminismes de la structure des communautés bactériennes et fongiques, (2) les relations entre structure des communautés et l'expression des fonctions *in situ*, et (3) les stratégies adaptatives des communautés sous différentes contraintes anthropiques. Les finalités de ces travaux contribuent à l'innovation dans les domaines de l'agriculture et de l'environnement.

CONTACT

<http://www.esitpa.org/recherche/igattin@esitpa.org>