Evolution de la structure des communautés bactériennes telluriques : impact du Cuivre.

Plassart Pierre (1, 2), Laval Karine (1) et Barray Sylvie (2).

(1) Laboratoire BioSol, 13 rue du Nord, 76000 Rouen, France
(2) LMDF, Université de Rouen, 76821 Mont Saint Aignan, France.

Introduction

Ce travail s'inscrit dans le cadre d'un programme multidisciplinaire soutenu par l'ADEME, intitulé « Elaboration et validation d'un indice de l'état biologique des sols ». Une partie de ce programme consiste à étudier *in situ* des variables descriptives de la structure des communautés bactériennes sur une durée de deux ans, afin d'estimer l'amplitude de leurs variations spatiotemporelles, puis à analyser la réponse de ces variables suite à un apport de cuivre, en microcosme. L'étude de la structure des communautés bactériennes au travers d'une estimation de leur abondance et de leur diversité est ici complétée par une analyse plus spécifique des populations de bactéries du genre *Pseudomonas*.

Matériels et méthodes

Sols :

Les sols étudiés proviennent du site d'Yvetot (Normandie, France), ce sont des sols limoneux non carbonatés, acides et présentant une texture relativement homogène : 10 à 20 % d'argile et 10 à 40 % de sables.

Mise en place des microcosmes :

Un ensemble de 90 microcosmes a été réalisé sur la base de ces sols, en place et non remaniés, issus de deux parcelles expérimentales : une parcelle sous grande culture intensive, et une parcelle implantée en prairie permanente depuis 1968. Ce jeu de microcosmes a permis le suivi de l'évolution sur une durée de 2 mois de l'état de ces sols après apport de cuivre à deux doses : une dose agronomique (2ppm) d'une part et une dose correspondant à 100X la dose agronomique d'autre part. Le suivi a été réalisé selon la cinétique suivante : T0, T1 semaine, T1 mois, T2 mois.

Etude de l'abondance bactérienne :

Après resuspension du sol dans une solution de NaCl 0,85%, les bactéries chimio organotrophes mésophiles cultivables et les *Pseudomonas* cultivables ont été dénombrés respectivement sur milieu R2A et sur milieu CFC supplémenté. Après extraction des ADN du sol (Bio101, Fast DNA spin kit for soil), la biomasse bactérienne totale et les populations de *Pseudomonas* totales ont été quantifiées par PCRq, respectivement sur l'ADNr 16S et le gène *oprF* (spécifique du genre *Pseudomonas*).

Etude de la diversité bactérienne :

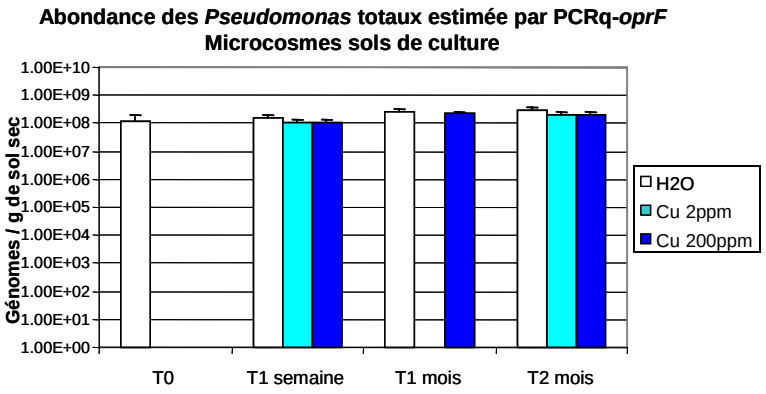
Les profils de diversité fonctionnelle potentielle des bactéries cultivables ont été obtenus sur microplaques BIOLOG ECO, ceux des *Pseudomonas* cultivables sur milieu CFC supplémenté l'ont été sur microplaques BIOLOG GN2.

Résultats – variabilité spatiotemporelle et impact de la pratique culturale

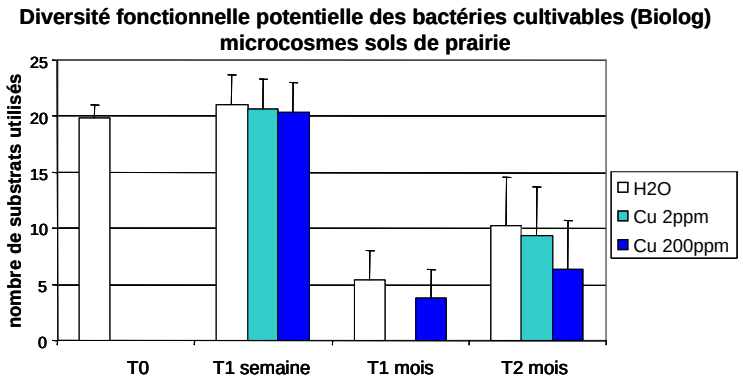
Les dénombrements de bactéries cultivables sur R2A et des *Pseudomonas* cultivables sur CFC supplémenté ne varient ni sous l'effet de la pratique culturale, ni au cours du temps. L'abondance de la biomasse bactérienne totale et des *Pseudomonas* totaux, évaluées par PCRq respectivement sur l'ADNr 16s et le gène *oprF*, sont sensibles à la pratique culturale ; l'abondance des *Pseudomonas* totaux est également sous l'influence de la date d'échantillonnage. Les comparaisons de ces données quantitatives montrent un enrichissement en bactéries cultivables ainsi qu'en *Pseudomonas* dans les sols sous grande culture.
De plus, la diversité fonctionnelle potentielle ainsi que la diversité génétique semblent être d'abord sensibles à la date d'échantillonnage, mais permettent également de déceler les effets de la pratique culturale sur les populations bactériennes étudiées.

Résultats – impact du cuivre, analyse en microcosmes

On trouve $2{,}5.10^{7}\pm9{,}1.10^{6}$ bactéries cultivables sur R2A / g de sol sec tamisé, $2{,}4.10^{6}\pm9{,}3.10^{5}$ *Pseudomonas* cultivables, et $1{,}5.10^{8}\pm2{,}9.10^{7}$ *Pseudomonas* totaux, quel que soit le sol dont est issu le microcosme (culture ou prairie), le temps d'analyse et la dose de cuivre appliquée.
Par ailleurs, l'abondance des bactéries totales (PCRq-16S) semble ne refléter que l'impact de la pratique culturale ($1{,}0.10^{10}\pm8{,}4.10^{8}$ équivalents génomes / g de sol en microcosme provenant de culture, contre $2{,}2.10^{10}\pm2{,}3.10^{9}$ dans ceux provenant de prairie).



Les profils de diversité fonctionnelle potentielle de ces populations, de même que ceux des populations de *Pseudomonas* cultivables issus des milieux CFC supplémentés, présentent une évolution au cours du temps. En revanche, aucun impact du cuivre sur les profils métaboliques potentiels de ces populations n'a été détecté. Les profils de diversité génétique sont en cours de réalisation.



Conclusion

La structure des communautés bactériennes est probablement déterminée initialement par les conditions pédoclimatiques de la parcelle, et est fortement marquée par la pratique culturale.
Dans nos conditions expérimentales, aucun impact du cuivre sur la structure des communautés bactériennes telluriques n'est mis en évidence. De plus, l'analyse des populations des bactéries du genre *Pseudomonas* semble être une approche pertinente dans la mesure où elle complète l'analyse de la communauté bactérienne dans son ensemble, et où elle est le révélateur des modifications de la structure de cette communauté.