RAPPORT D’ÉTUDE

Communautés microbiennes de fibre de coco en culture de tomate hors-sol inoculée

Projet UPVD · Les Paysans de Rougeline · GreenCell

Rapport rédigé par Rémi Espert

Année universitaire 2023–2024

Rapport de synthèse fondé sur les comptes rendus expérimentaux fournis. Les résultats concernent les communautés microbiennes du substrat ; aucune mesure sur les plantes n’a été réalisée.

Sommaire

1. Introduction et contexte bibliographique 3

2. Objectifs 4

3. Matériel et méthodes 5

4. Résultats 7

5. Discussion 10

6. Limites et perspectives 11

7. Conclusion et bibliographie 12

Annexes : données synthétiques et contrôles de cohérence 13

Note de lecture. Les quatre PDF ont été lus. Le rapport CR_BORDENAVE_THIERY constitue le jeu principal pour l'Eco-Plate car il est le seul à présenter simultanément les quatre modalités, quatre temps et des écarts-types de l'indice E. Les autres rapports ont été utilisés pour confronter les protocoles et les valeurs enzymatiques. Les éléments relatifs aux biocapteurs/insecticides ont été exclus.

1. Introduction et contexte bibliographique

La culture de tomate hors-sol remplace le sol agricole par un substrat poreux, ici une fibre de coco broyée, alimenté par fertirrigation. Ce système permet de contrôler l'eau et les ions minéraux, mais il ne constitue pas un milieu biologiquement neutre : les racines, les apports et les matériaux créent une niche où s'établissent des microorganismes. Dans le projet UPVD–Les Paysans de Rougeline–GreenCell, la question porte sur la manière dont des inoculations de biocontrôle modifient le fonctionnement microbien de ce compartiment racinaire.

Les bactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR) peuvent agir par plusieurs mécanismes : production de phytohormones, compétition pour les ressources, antagonisme vis-à-vis de microorganismes nuisibles, mobilisation de nutriments et modulation de la rhizosphère. *Bacillus methylotrophicus* est étudié ici comme inoculant bactérien. Les espèces du genre *Trichoderma*, dont *T. harzianum*, sont des champignons filamenteux fréquemment mobilisés en biocontrôle ; leurs effets peuvent impliquer mycoparasitisme, antibiose, compétition et stimulation des défenses végétales.

Dans une Eco-Plate Biolog, l'absorbance reflète la réduction d'un tétrazolium en formazan lorsque des microorganismes utilisent les substrats carbonés proposés. L'AWCD décrit l'activité métabolique moyenne dans les puits. La richesse fonctionnelle S correspond ici au nombre de réponses supérieures au seuil retenu. Shannon décrit simultanément la richesse et la répartition des intensités de réponse, mais il ne mesure pas directement la richesse taxonomique. Enfin, le dosage FDA renseigne une activité hydrolytique globale associée aux cellules vivantes, tandis que le PNP renseigne l'hydrolyse d'un substrat phosphaté.

Ces indicateurs sont des profils physiologiques potentiels, dépendants de l'extraction, de la dilution et de l'incubation. Ils ne permettent donc pas, à eux seuls, d'identifier les espèces ni de conclure à une amélioration du rendement de tomate. Cette distinction guide l'interprétation du présent rapport.

2. Objectifs et dispositif expérimental

L’objectif général est de comparer le fonctionnement de communautés microbiennes associées à une fibre de coco utilisée en culture de tomate hors-sol, selon quatre modalités :

Modalité	Inoculation	Dose indiquée dans les rapports
Témoin	Aucune	—
Bactérie	*Bacillus methylotrophicus*	500 g ha^{-1}
Champignon	*Trichoderma harzianum*	200 g ha^{-1}
Fongibacter®	Association des deux microorganismes	200 g ha^{-1}

Les objectifs opérationnels sont : (i) suivre pendant 96 h l’activité métabolique et la richesse fonctionnelle avec une Eco-Plate Biolog ; (ii) comparer des activités enzymatiques estérase (FDA) et phosphatase (PNP) ; (iii) rechercher des différences entre modalités tout en distinguant tendances descriptives et effets statistiquement démontrés ; (iv) expliciter les limites qui empêchent de relier directement ces mesures à la croissance, au rendement ou à l’azote réellement absorbé par les plantes.

Le plan fourni n’est pas un plan statistique complet : les tableaux principaux de l’Eco-Plate rapportent une valeur par modalité et par temps, tandis que les écarts-types fournis concernent E dans le rapport Bordenave–Thiery. Les tests inférentiels entre modalités n’ont donc pas été réalisés ; il serait incorrect de transformer ces valeurs agrégées en répétitions indépendantes.

3. Matériel et méthodes

3.1. Préparation et Eco-Plate Biolog

Pour chaque modalité, 1 g de fibre de coco est extrait dans 9 mL de solution de Ringer à 25 % et 1 mL de pyrophosphate de sodium à 1,8 %. Les rapports décrivent une sonication d'environ 3–4 min, un repos de 15 min, puis une dilution au dixième. Cent microlitres sont distribués dans les puits d'une Eco-Plate, qui contient trois répétitions de substrats carbonés répartis en groupes fonctionnels. Les plaques sont lues à 590 nm et à 750 nm à T0, T24, T48, T72 et T96, puis incubées à 28 °C.

Le traitement harmonisé est : A = A590 – A750 ; soustraction du signal moyen des puits d'eau ; soustraction du signal à T0 ; remplacement des valeurs négatives par zéro. Les indicateurs sont calculés sur les réponses corrigées. Dans le jeu Bordenave–Thiery, la formule reportée pour AWCD est exprimée avec un dénominateur 93 ; nous conservons les valeurs publiées car les absorbances brutes permettant un recalcul indépendant ne sont pas présentes sous forme exploitable dans les PDF.

3.2. Indicateurs

AWCD = moyenne des réponses corrigées des puits carbonés. S = nombre de réponses positives ; dans un rapport, le seuil de 0,250 est indiqué. Shannon est calculé à partir des proportions de réponse p_i : $H' = -\Sigma\, p_i \ln(p_i)$. Simpson est présenté comme $D = 1 - \Sigma p_i^2$ (intervalle 0–1), mais il n'a pas pu être recalculé sans les absorbances par puits. La régularité $E = H'/\ln(S)$ doit être comprise entre 0 et 1.

3.3. Enzymes

Pour FDA, 1 g de substrat est incubé avec tampon phosphate et FDA pendant 60 min, puis filtré ; l'absorbance est lue vers 490–492 nm. Pour PNP, l'extraction est réalisée dans tampon Tris pH 6,5, avec incubation de 60 min et lecture vers 450 nm. Les contrôles « substrat seul », « réactif seul » et « sans réactif » sont soustraits selon les rapports. Les valeurs reportées ci-dessous sont des absorbances corrigées, non des vitesses exprimées en quantité de produit par unité de temps.

4. Résultats

4.1. Eco-Plate : évolution temporelle

Les valeurs retenues sont celles du rapport Bordenave–Thiery. Elles montrent une activité moyenne relativement stable au cours des 96 h, avec une légère hausse finale pour la bactérie et le Fongibacter®, tandis que le champignon reste le plus élevé à 24–48 h mais termine à 0,256.

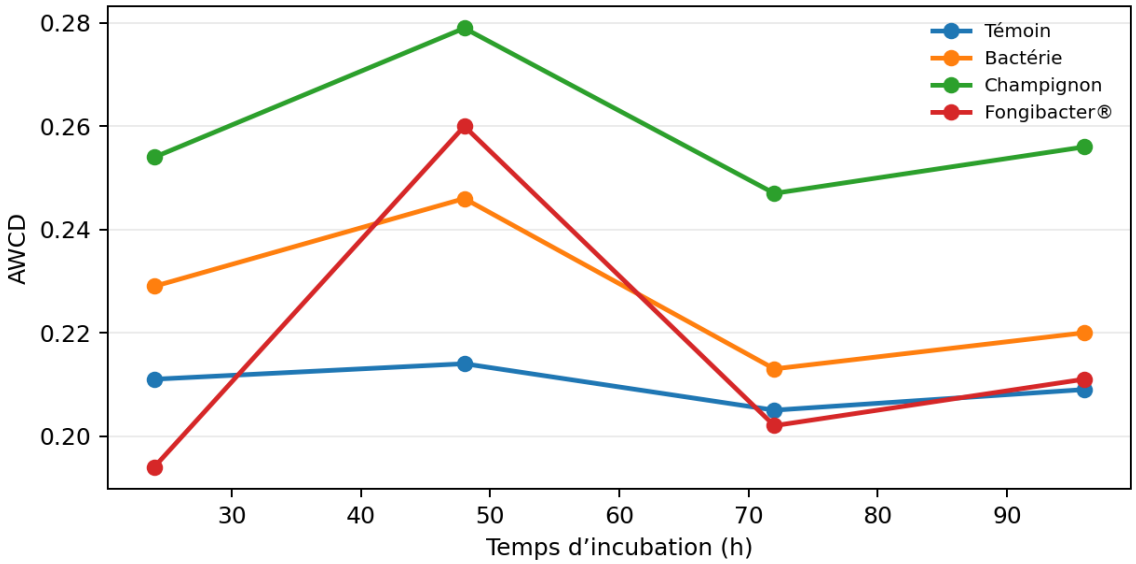


Figure 1. Évolution de l'AWCD selon la modalité. Valeurs agrégées publiées dans CR_BORDENAVE_THIERY.

À T96, l'AWCD est de 0,209 pour le témoin, 0,220 pour la bactérie, 0,256 pour le champignon et 0,211 pour Fongibacter®. La différence maximale entre modalités est donc de 0,047 unité d'absorbance, sans test statistique possible.

4.2. Richesse et diversité fonctionnelles

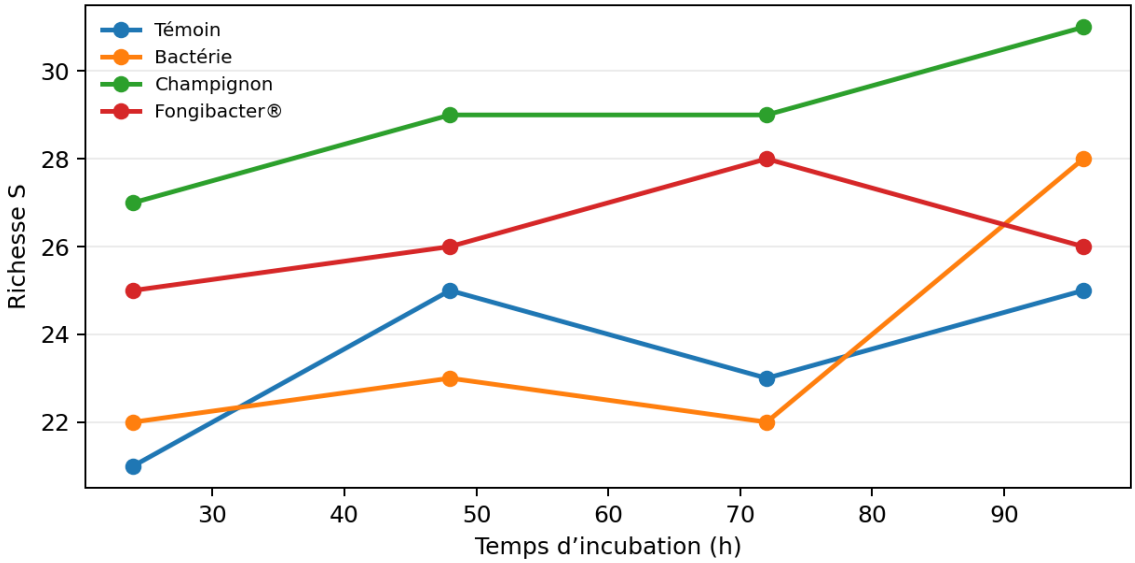


Figure 2. Richesse fonctionnelle S (nombre de réponses positives reportées).

La richesse augmente globalement entre T24 et T96 pour le témoin (21 à 25), la bactérie (22 à 28) et le champignon (27 à 31). Fongibacter® passe de 25 à 26 après un maximum de 28 à T72. Le champignon présente la richesse la plus élevée à T96, mais ces différences restent descriptives.

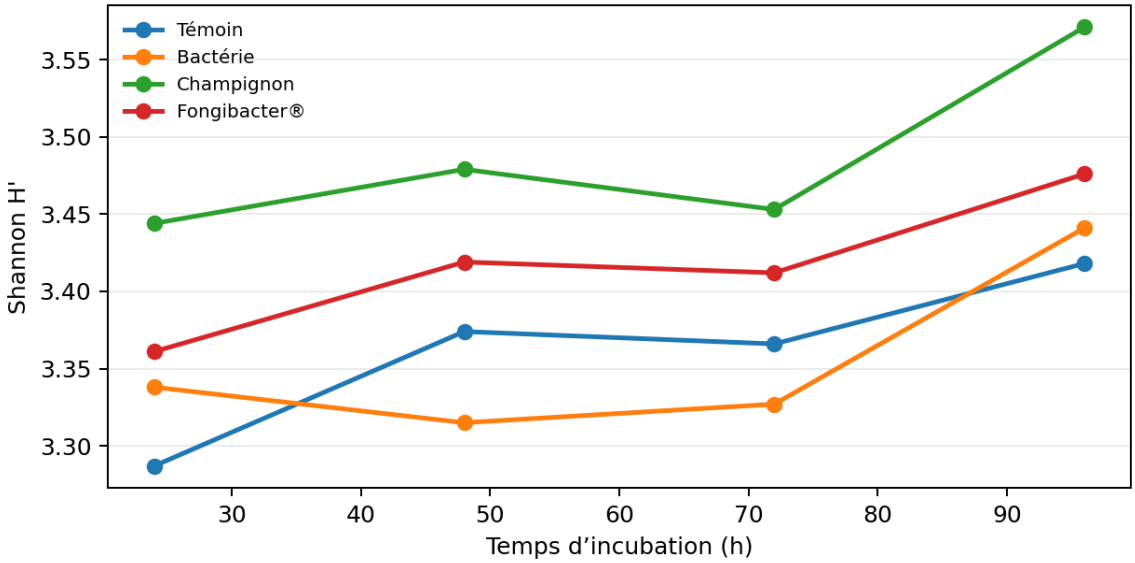


Figure 3. Indice de Shannon H' publié ; l'interprétation est accompagnée d'un contrôle de cohérence en annexe.

4.3. Activités enzymatiques

Les valeurs enzymatiques sont issues des tableaux/figures des rapports étudiants et sont utilisées comme indicateurs d'activité relative. Elles ne doivent pas être comparées comme des concentrations absolues entre deux longueurs d'onde différentes.

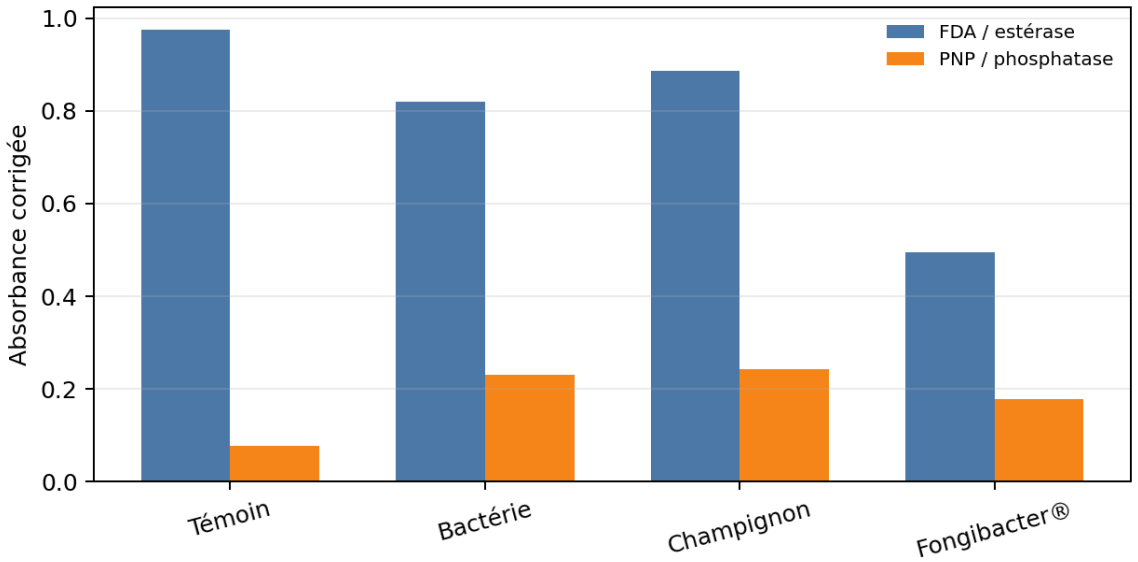


Figure 4. Absorbances corrigées rapportées pour FDA (estérase) et PNP (phosphatase).

Modalité	FDA / estérase	PNP / phosphatase
Témoin	0,975	0,077
Bactérie	0,820	0,230
Champignon	0,887	0,242
Fongibacter®	0,496	0,178

Le témoin présente une valeur FDA très élevée (0,975), explicitement considérée comme anormale dans les rapports. Pour le PNP, les trois modalités inoculées sont supérieures au témoin, avec le champignon en tête (0,242), puis la bactérie (0,230) et Fongibacter® (0,178).

5. Discussion

5.1. Une réponse fonctionnelle modérée et dépendante du temps

Le profil Eco-Plate ne montre pas de séparation nette et constante des modalités. Le champignon se distingue surtout par un AWCD et une richesse élevés dès T24, alors que la bactérie termine avec une richesse accrue. Le Fongibacter® n'est pas systématiquement supérieur : son AWCD final est proche du témoin et sa richesse finale est inférieure à celle du champignon et de la bactérie. Cela ne permet pas de conclure à un effet de synergie ou d'antagonisme ; une compétition entre inoculants est une hypothèse à tester, pas un résultat démontré.

5.2. Activités hydrolytiques contrastées

Le contraste FDA–PNP est marqué : FDA est la plus forte chez le témoin, alors que PNP est plus forte chez les modalités inoculées. Une activité FDA élevée ne signifie pas nécessairement une communauté plus diversifiée ; elle peut refléter une biomasse active, une interférence de matrice ou une différence de rendement de réaction. Inversement, une activité phosphatase accrue peut signaler une mobilisation potentielle du phosphore, sans démontrer un transfert vers la plante.

5.3. Ce qui peut — et ne peut pas — être conclu

Les résultats soutiennent une modification du profil fonctionnel du substrat après inoculation, surtout pour l'activité phosphatase et certains indicateurs Eco-Plate. Ils ne démontrent ni une augmentation d'azote absorbé, ni une amélioration de croissance, ni un gain de rendement. Ils ne permettent pas non plus d'attribuer une réponse à l'espèce inoculée avec certitude, car la communauté totale n'a pas été caractérisée par séquençage ou dénombrement spécifique.

6. Limites, corrections et perspectives

6.1. Limites expérimentales

• Les absorbances brutes par puits ne sont pas disponibles de manière exploitable dans les quatre PDF : AWCD, S et H’ sont donc repris du jeu agrégé le plus complet. Le Simpson n’a pas été recalculé. • Les rapports divergent sur certains détails de protocole (durée de sonication, température, filtration, concentration des tampons). Le présent rapport unifie la logique analytique, mais ne peut pas reconstituer l’exécution exacte de chaque séance. • Les valeurs enzymatiques ne sont pas accompagnées d’un tableau complet de répétitions et d’écarts-types utilisable pour un test. Aucun test statistique n’est donc présenté. • L’Eco-Plate privilégie les microorganismes capables de croître et d’utiliser les substrats dans les conditions de la plaque ; elle ne représente pas toute la communauté, notamment les champignons. • La valeur FDA du témoin est anormalement élevée et doit être considérée comme un signal de contrôle qualité, non comme une preuve biologique.

6.2. Corrections et contrôles de cohérence

Les valeurs E > 1 publiées dans le rapport Bordenave–Thiery sont incompatibles avec E = H’/ln(S). La substitution de H’ et S publiés dans cette formule reproduit néanmoins ces valeurs supérieures à 1 : l’anomalie vient donc des données H’/S ou de leur attribution, et non d’un simple arrondi. Nous conservons H’ et S comme résultats rapportés, marquons E comme non valide pour l’interprétation et ne fabriquons pas de valeur corrigée. Le H’ de Fongibacter® à T48 dans un autre rapport (6,85) est également impossible avec S=15 et a été écarté au profit du jeu Bordenave–Thiery cohérent temporellement.

6.3. Perspectives

Il faut répéter l’essai avec au moins 4–6 unités biologiques par modalité, randomiser les plaques, conserver les absorbances individuelles et analyser les données par modèle mixte modalité × temps. Il faut ajouter croissance, biomasse, rendement, teneur en azote des tissus, azote minéral du drainage et variables racinaires. Un suivi qPCR ou séquençage permettrait de vérifier l’installation des inoculants ; des contrôles abiotiques et des blancs de matrice sécuriseraient FDA/PNP.

7. Conclusion et bibliographie

Dans la fibre de coco de tomate hors-sol, les quatre modalités présentent des profils fonctionnels proches mais non identiques. Le champignon montre les valeurs Eco-Plate les plus élevées à plusieurs temps et la meilleure richesse finale dans le jeu retenu. La bactérie progresse en richesse jusqu'à T96. Fongibacter® ne présente pas d'avantage systématique sur les indicateurs globaux. L'activité phosphatase est supérieure dans les modalités inoculées, tandis que l'activité FDA du témoin est anormalement élevée et doit être vérifiée. La conclusion robuste est donc celle d'une modification fonctionnelle possible des communautés microbiennes, sans preuve encore d'un bénéfice agronomique ou d'un effet sur l'absorption d'azote.

Bibliographie vérifiable

Garland, J. L. & Mills, A. L. (1991). Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization. *Applied and Environmental Microbiology*, 57(8), 2351–2359.

Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I. & Lorito, M. (2004). Trichoderma species — opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, 2, 43–56. https://doi.org/10.1038/nrmicro797

Vessey, J. K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255, 571–586. https://doi.org/10.1023/A:1026037216893

Green, V. S., Stott, D. E. & Diack, M. (2006). Assay for fluorescein diacetate hydrolytic activity: Optimization for soil samples. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(4), 693–701. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.06.020

Rapports sources fournis (consultés en totalité) : CR_BORDENAVE_THIERY.pdf ; TP1_Etude des communautés microbiennes ARTUSI_CAHUZAC.pdf ; Tp1Biocap.pdf ; TP biocapteur 4h (1).pdf.

Annexe A. Données Eco-Plate retenues

Tableau A1. Valeurs agrégées du rapport Bordenave–Thiery et contrôle arithmétique de E. Les valeurs E recalculées reproduisent l'anomalie >1 ; elles sont conservées uniquement pour audit et non interprétées biologiquement.

Modalité / temps	AWCD	S	H'	E publié	E recalculé H'/ln(S)
Témoin, T24	0.211	21	3.287	1.079	1.080
Témoin, T48	0.214	25	3.374	1.048	1.048
Témoin, T72	0.205	23	3.366	1.074	1.074
Témoin, T96	0.209	25	3.418	1.062	1.062
Bactérie, T24	0.229	22	3.338	1.079	1.080
Bactérie, T48	0.246	23	3.315	1.057	1.057
Bactérie, T72	0.213	22	3.327	1.076	1.076
Bactérie, T96	0.220	28	3.441	1.033	1.033
Champignon, T24	0.254	27	3.444	1.045	1.045
Champignon, T48	0.279	29	3.479	1.033	1.033
Champignon, T72	0.247	29	3.453	1.026	1.025
Champignon, T96	0.256	31	3.571	1.039	1.040
Fongibacter®, T24	0.194	25	3.361	1.044	1.044
Fongibacter®, T48	0.260	26	3.419	1.049	1.049
Fongibacter®, T72	0.202	28	3.412	1.024	1.024
Fongibacter®, T96	0.211	26	3.476	1.067	1.067

Résumé à T96 : témoin AWCD 0,209 ; S 25 ; H' 3,418. Bactérie 0,220 ; 28 ; 3,441. Champignon 0,256 ; 31 ; 3,571. Fongibacter® 0,211 ; 26 ; 3,476.

Annexe B. Traçabilité des sources et décisions analytiques

Élément	Source retenue	Décision
Eco-Plate, T24–T96	CR_BORDENAVE_THIERY	Jeu principal : 4 modalités × 4 temps ; valeurs agrégées.
Écarts-types	CR_BORDENAVE_THIERY	Présents pour E seulement ; insuffisants pour comparer les modalités.
FDA / estérase	ARTUSI_CAHUZAC + concordance avec rapports	Valeurs finales corrigées rapportées ; témoin signalé anormal.
PNP / phosphatase	CR_BORDENAVE_THIERY / ARTUSI_CAHUZAC	Témoin 0,077 ; bactérie 0,230 ; champignon 0,242 ; Fongibacter® 0,178.
Simpson	Aucun PDF ne fournit les absorbances par puits	Non calculé ; aucune valeur inventée.
Biocapteurs/insecticides	Rapports sources	Exclus du périmètre.

Annexe C. Vérifications effectuées

Ce rapport a été rédigé à partir des travaux réalisés par Hélène Artusi, Robin Cahuzac, Romain Bordenave, Aline Thiery, Blathase Ashaïna, Ramirez Triana, Thibaut Herrero et Idir Saber.