

RECHERCHE

PRÉPARATIONS, MICROBIOME DU SOL, PLANTE

Les préparations biodynamiques à pulvériser influencent-elles dans le sol le microbiome potentiellement favorable à la croissance des plantes ?



ÉQUIPE D'AUTEURS :

Dr. JÜRGEN FRITZ (PHOTO), Dr. HEBERTO RODAS-GAITAN,
 Dr. GEORG MEISSNER, VINCENT MASSON, MEIKE OLTMANN,
 Dr. YVETTE WOHLFAHRT, Prof. MIRIAM ATHMANN
j.fritz@uni-kassel.de



Une augmentation du microbiome du sol présente un grand intérêt sur le plan agricole, car elle favorise la croissance des plantes. Il existe ainsi des bactéries et des champignons qui améliorent la résilience des plantes en cas de stress de croissance, tel que la sécheresse ou l'humidité.

Dans cet article, on constate que les pulvérisations de préparations biodynamiques augmentent, dans le sol, la proportion de bactéries et de champignons potentiellement capables de favoriser la croissance des plantes.

Importance du microbiome

Le microbiome du sol, avec ses bactéries et ses champignons, peut être étudié de plus en plus précisément depuis quelques années grâce au séquençage génétique. Ainsi, l'analyse de 5 à 10 g de sol provenant de nos échantillons a permis de déterminer environ 1000 souches de bactéries et 900 souches de champignons ainsi que leur proportion dans l'échantillon. Le groupe des « micro-organismes favorisant potentiellement la croissance des plantes » (en anglais « plant growth promoting microorganisms » PGPM) est particulièrement intéressant pour la culture des plantes. Ce groupe comprend par exemple des bactéries et des champignons qui peuvent produire des hormones végétales favorisant la croissance, comme l'auxine, la cytokinine et la gibbérelline. D'autres bactéries et champignons produisent des substances qui soutiennent les plantes en cas de stress de croissance, dû par exemple à la chaleur, à la sécheresse ou à l'humidité. La résilience des plantes au stress peut être améliorée par ces micro-organismes. Les bactéries et les champignons produisent par exemple des EPS (exopolysaccharides). Ce sont des polymères qui favorisent la formation d'une structure grumeleuse stable dans le sol et protègent les racines des plantes contre le stress de la sécheresse grâce à un biofilm.

Les résultats d'Ortiz-Alvarez et al. (2021), Radha & Rao (2014), Spaccini et al. (2012) et Giannattasio et al. (2013) suggèrent que les préparations biodynamiques à pulvériser ont un effet sur le microbiome du sol. Les présents essais visent à tester l'hypothèse selon laquelle les pulvérisations de préparations biodynamiques augmentent la proportion dans le sol de bactéries et de champignons, qui peuvent potentiellement favoriser la croissance des plantes. La question expérimentale

est la suivante : l'utilisation des pulvérisations de préparations biodynamiques inocule-t-elle le sol avec des micro-organismes pouvant potentiellement favoriser la croissance des plantes ?

Matériel et méthode

Des échantillons de la préparation de bouse de corne 500 ont été prélevés sur les sites de production de Darmstadt, Cluny (France), Bad Vilbel et Zülpich. Des échantillons de la préparation de bouse de corne 500P (bouse de corne avec des préparations de compost) provenant de Cluny ont été analysés. Des échantillons de la préparation de silice de corne provenant de Darmstadt, Cluny, Bad Vilbel et Velden ont été analysés (voir tableau 1). Des échantillons de sol (13 cm de profondeur) ont été prélevés dans quatre essais différents en plein champ :

1. un essai de longue durée à Frankenhausen (ferme expérimentale de l'université de Kassel) sur des céréales, à partir de quatre rotations différentes avec 4 répétitions à chaque fois sans et avec application de préparations (4 × bouse de corne + 2 × silice de corne ; 16 comparaisons par paires) ;
2. un essai de longue durée sur vigne à l'Université de Geisenheim, avec 4 répétitions sans et avec application de préparations (3 × bouse de corne + 3 × silice de corne ; 4 comparaisons par paires) ;
3. un essai sur le terrain à Darmstadt, mis en place par le Forschungsring et l'Université de Bonn, sur des céréales et 4 cultures précédentes différentes, avec 4 répétitions (essai d'intensification : 3 × bouse de corne et silice de corne contre 1 × bouse de corne et silice de corne ; 16 comparaisons par paires) ;
4. 21 sites de production répartis dans toute la France, avec et sans les préparations biodynamiques à pulvériser (une à plusieurs applications de bouse de corne et de silice de corne, avec une large diversité de types de sols, cultivés en rotation ou en vigne).

En outre, des séries chronologiques ont été établies sur deux sites (essai de longue durée à Frankenhausen sur des céréales, ainsi que trois sites de production viticole en France), avec à chaque fois sept prélèvements d'échantillons à deux semaines d'intervalle pendant la période végétative.

Tous les échantillons ont été envoyés au laboratoire Biome Makers à Valladolid, Espagne, pour l'extraction et l'analyse de l'ADN. L'évaluation des échantillons de préparations a été présentée en pourcentage des groupes microbiologiques des micro-organismes favorisant la croissance des plantes. Pour l'évaluation des échantillons de sol, le laboratoire a indiqué un « BeCrop Index », qui est une mesure de l'abondance (nombre) de micro-organismes pouvant potentiellement assumer une fonction telle que la production de gibbérelline ou de cytokinine (pour plus d'informations sur le matériel et les méthodes, voir Milke et al. 2024).

>>>

RECHERCHE

Tableau 1 : MICRO-ORGANISMES POTENTIELLEMENT PROMOTEURS DE CROISSANCE DANS LES PRÉPARATIONS BIODYNAMIQUES

		Hormones			Adaptation au stress						
		Auxine	Cytokinine	Gibbérelline	Acide abscissique (ABA)	Inhibition de l'éthylène (ACC)	Exopolysaccharides (EPS)	Solubilisation des métaux lourds	Acide salicylique (SA)	Tolérance au sel	Sidérophore
Darmstadt	500	1,51	0,35	0,55	0,05	0,54	0,21	0,11	0,00	0,64	0,24
Cluny 1	500	4,31	2,79	2,13	0,02	3,25	0,97	0,33	0,00	2,22	1,99
Cluny 2	500	4,80	2,99	2,15	0,02	4,04	1,21	0,33	0,00	2,36	2,12
Cluny 1	500P	6,02	4,93	3,66	0,02	5,42	1,24	0,62	0,00	4,07	3,82
Cluny 2	500P	5,08	3,01	2,12	0,03	3,47	1,20	0,39	0,01	2,19	1,87
Bad Vilbel	500	1,74	1,06	0,90	0,01	0,91	1,28	0,27	0,00	0,94	0,49
Bad Vilbel	500	2,41	1,70	3,03	0,19	1,56	0,40	0,14	0,01	1,13	0,98
Zülpich 1	500	5,08	1,30	0,61	0,03	1,31	1,36	0,92	0,00	1,02	1,51
Zülpich 2	500	2,03	1,38	3,01	0,18	1,41	0,64	0,06	0,01	0,92	0,47
Darmstadt	501	10,18	5,21	4,37	0,23	4,94	1,14	0,99	0,38	4,92	3,39
Cluny 1	501	10,19	3,94	3,70	0,02	5,51	2,01	1,68	0,96	3,79	3,88
Cluny 2	501	8,00	5,87	5,64	0,02	6,24	0,50	0,40	0,23	5,69	5,66
Bad Vilbel	501	16,69	11,19	8,09	1,10	11,37	8,50	6,00	0,63	10,23	6,21
Velden	501	47,17	12,13	7,86	0,90	8,97	11,31	6,84	0,74	20,22	6,59

Pourcentage de bactéries et de champignons qui, selon les bases de données BeCrop, ont des fonctions potentiellement favorables pour la croissance des plantes. Les différents lieux de fabrication des préparations sont indiqués par les noms des lieux. Tableau modifié d'après Milke et al. (2024)

500 : bouse de corne ; 500P : Bouse de corne avec préparations du compost ; 501 : silice de corne.

Résultats et discussion

Nous avons tout d'abord vérifié si les préparations à pulvériser étaient riches en micro-organismes favorisant potentiellement la croissance des plantes (question expérimentale 1 du tableau 2). Dans l'ensemble du microbiome séquencé dans neuf préparations différentes de bouse de corne et cinq préparations différentes de silice de corne, des proportions élevées de PGPM ont été mesurées, et ce, pour la formation des hormones végétales auxine, cytokinine et gibbérelline, ainsi que pour les mécanismes d'adaptation au stress que sont l'inhibition de l'éthylène, la formation d'exopolysaccharides, la solubilisation des métaux lourds, la tolérance à la salinisation et la libération de sidérophores fixant le fer (tableau 1). Aucun enrichissement n'a été observé pour les micro-organismes qui produisent potentiellement de l'acide abscissique et de l'acide salicylique, avec des taux presque systématiquement nettement inférieurs à 1 % (voir les flèches jaunes dans le tableau 1).

La deuxième question de l'essai (tableau 2) était de savoir si les teneurs élevées en micro-organismes favorisant potentiellement la croissance des plantes dans la bouse de corne et la silice de corne augmentaient la proportion de ces micro-organismes dans le sol après l'épandage des préparations. Dans l'essai sur les céréales à Frankenhausen, après l'application de bouse de corne et de silice de corne, la proportion de PGPM dans le sol a augmenté de manière significative pour les trois groupes de micro-organismes potentiellement producteurs d'hormones, ainsi que pour les cinq groupes de PGPM favorisant l'adaptation au stress, qui étaient déjà présents dans les préparations pulvérisées (figure 1). Une observation similaire a été faite pour les 21 sites de production en France.

Partant de la question pratique de savoir si une application plus fréquente des préparations par rapport aux usages standard Demeter renforçait l'effet des préparations, l'essai de Darmstadt a comparé une application unique de bouse de corne et de silice de corne à une triple application des deux préparations. En effet, pour deux groupes de micro-organismes potentiellement producteurs d'hormones et cinq groupes de micro-organismes potentiellement médiateurs de l'adaptation au stress, l'intensification de l'application a entraîné des proportions significativement plus élevées de PGPM dans le microbiome total séquencé (figure 1).

Seule l'expérience de Geisenheim n'a pas montré de différences significatives. Il est frappant de constater que pour les dix groupes de microbiomes, l'utilisation des préparations biodynamiques pulvérisées a même entraîné une tendance à la baisse des proportions de PGPM dans le sol. Contrairement à la plupart des essais comparatifs de systèmes, les deux alternatives de culture écologique étudiées ici sont mieux approvisionnées en azote que dans la méthode de culture intégrée, en raison d'un enherbement riche en légumineuses et bien développé (Meissner et al. 2019) : Il est possible que l'apport élevé d'azote ait provoqué ici des interactions moins prononcées entre les plantes et les micro-organismes. Toutefois, le site de Frankenhausen se caractérise également par un apport d'azote élevé. Le facteur eau peut également avoir eu une influence, ce dernier n'étant pas un facteur limitant pour la croissance en 2021. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour déterminer dans quelles conditions l'enrichissement en PGPM dans les préparations à pulvériser entraîne également un enrichissement dans les sols traités.

RECHERCHE

La troisième question expérimentale (tableau 2) était de savoir si la structure des groupes fonctionnels des micro-organismes susceptibles de favoriser la croissance des plantes dans les préparations biodynamiques correspondait à celle des sols traités. Les données montrent que les deux groupes de PGPM qui ne sont pas présents dans les préparations (producteurs d'acide salicylique et d'acide abscessique) n'ont pas été significativement augmentés par l'application des préparations dans les sols traités, et ce, dans aucun des quatre essais (tableau 1, flèches jaunes).

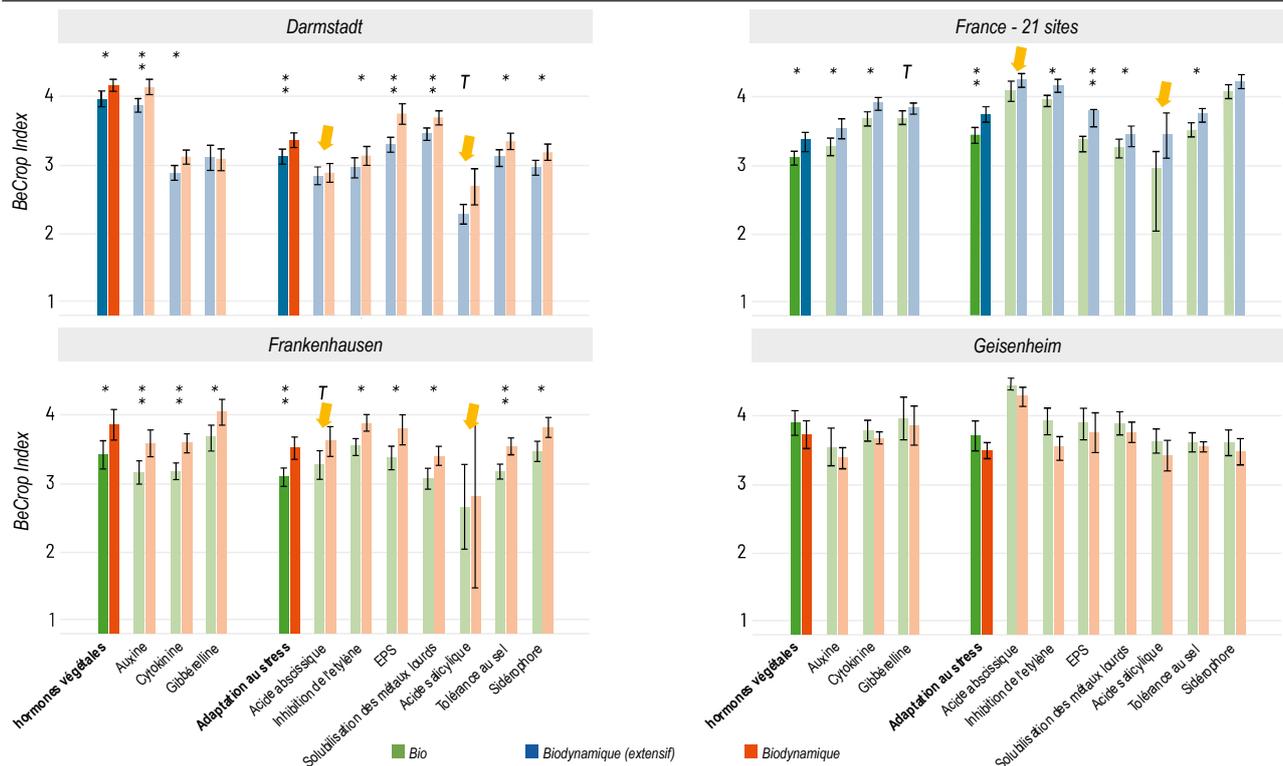
Une caractéristique typique d'une inoculation réussie du sol est que, dans une série chronologique, l'effet de l'inoculation augmente par étapes jusqu'à un point culminant, puis diminue à nouveau. C'est pourquoi, dans les présents essais, une série chronologique a été réalisée sur quatre sites (4^e question expérimentale du tableau 2). La figure 2 montre la différence entre le contrôle sans traitement (la ligne 0,0) et l'application de la préparation (barres vertes dans la figure 2). La valeur moyenne de tous les groupes de PGPM mesurés est représentée. Avant la pulvérisation à la semaine 0, la valeur dans les modalités traitées est proche de zéro. La valeur augmente progressivement après le traitement à la préparation jusqu'à la 8^e semaine après le traitement, puis diminue jusqu'à la 15^e semaine. L'évolution dans le

temps de l'abondance des PGPM après le traitement avec la préparation correspond donc à la série temporelle attendue en cas d'inoculation du sol.

Un indice supplémentaire de l'inoculation du sol par des micro-organismes est la colonisation du sol traité par les micro-organismes enrichis dans les préparations (5^e question expérimentale du tableau 2). Pour cela, il a été vérifié si les souches de micro-organismes qui apparaissent fréquemment (> 0,5 %) dans les préparations apparaissent également plus fréquemment dans les sols ayant reçu des préparations, par rapport au témoin. Une colonisation des sols traités induite par les préparations a donc eu lieu de manière significative. La série chronologique a également montré une colonisation croissante des bactéries jusqu'à la 8^e semaine, puis une diminution jusqu'à la 15^e semaine (pour plus de détails, voir Milke et al. 2024). De manière similaire à nos résultats, à l'aide d'un logiciel de détermination de l'origine des microbes ou des champignons des sols étudiés (Source Tracker), Olimi et al. (2022) ont constaté qu'après le traitement à la bouse de corne, des bactéries et des champignons provenant de la bouse de corne ont été retrouvés dans la zone racinaire du sol. La proportion de bactéries et de champignons retrouvés dans la bouse de corne était plus élevée un mois après le traitement que quatre mois après.

>>>

Figure 1 : PRÉPARATIONS BIODYNAMIQUES - EFFETS SUR LE MICROBIOME DANS DIFFÉRENTS SITES.



Analyse des fonctions des communautés microbiennes du sol potentiellement favorables à la croissance des plantes. La fréquence des fonctions est représentée par le BeCrop-Index de Biome Makers et va de 1 à 6. Les fonctions microbiennes qui favorisent la croissance des plantes sont classées par production d'hormones et adaptation au stress.

Les fonctions individuelles sont représentées en couleurs claires, les groupes fonctionnels en couleurs sombres. Les barres d'erreur représentent des erreurs standard.

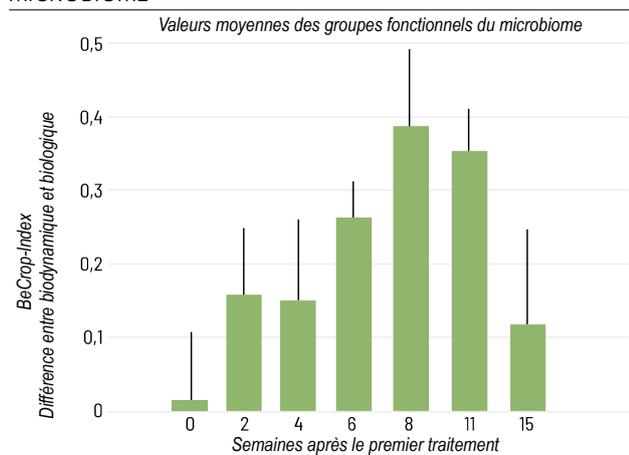
Les symboles au-dessus des barres indiquent une signification statistique :

T = valeur $P < 0,1$, * = valeur $P < 0,05$, ** = valeur $P < 0,01$.

Graphique tiré de Milke et al. (2024)

BIODYNAMIQUE

Figure 2 : PRÉPARATIONS BD – EFFET POST-TRAITEMENT SUR LE MICROBIOME



Analyse des séries temporelles des valeurs moyennes de tous les groupes fonctionnels des communautés microbiennes du sol potentiellement favorables à la croissance des plantes. Est représentée la différence du BeCrop-Index de Biome Makers entre le contrôle sans traitement (la ligne 0,0) et la variante avec application de préparations par pulvérisation (barres vertes). Les lignes verticales indiquent l'erreur standard.

Graphique tiré de Milke et al. (2024).

Conclusion

Les résultats des études soutiennent l'hypothèse selon laquelle l'application de la préparation biodynamique à base de bouse de corne et de silice de corne est (entre autres effets possibles) une inoculation du sol avec des micro-organismes favorisant potentiellement la croissance des plantes. La résilience des plantes face aux stress de croissance tels que la chaleur, la sécheresse et l'humidité peut ainsi être augmentée. Cela est en accord avec les études sur l'utilisation des préparations, dans lesquelles des effets d'augmentation du rendement des préparations biodynamiques à pulvériser ont été observés, en particulier dans des conditions de croissance défavorables (Raupp & König 1996). Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour déterminer quels facteurs environnementaux ou de gestion favorisent ou inhibent l'accumulation de PGPM dans les sols traités et, le cas échéant, dans quelles circonstances le potentiel accumulé dans le sol se traduit réellement par une plus grande résilience des plantes. ●

Tableau 2 : APERÇU DES QUESTIONS ET DES RÉSULTATS DES ESSAIS

Les préparations biodynamiques à pulvériser agissent-elles comme une inoculation dans le sol de micro-organismes favorisant potentiellement la croissance des plantes (PGPM) ?	
- Les PGPM sont-elles présentes dans les préparations à pulvériser ?	500 : ✓ 501 : ✓
- Augmentation de l'abondance des PGPM (nombre) dans les sols traités ?	Frankenhausen : ✓ 21 Sites en France : ✓ Darmstadt* : ✓ Geisenheim : ✗
- Concordance des groupes fonctionnels des PGPM dans les préparations pulvérisées et les sols traités ?	Enrichissement en PGPM dans les préparations → Enrichissement dans les sols traités : - Auxine : ✓ - Cytokinine : ✓ - Gibbérellin : ✓ - Inhibition de l'éthylène : ✓ - Exopolysaccharides : ✓ - Solubilisation des métaux lourds : ✓ - Tolérance au sel : ✓ - Sidérophores : ✓ Pas d'enrichissement en PGPM dans les préparations → pas d'enrichissement dans les sols traités - Acide absicique : ✓ - Acide salicylique : ✓
La série chronologique montre un modèle typique d'inoculation avec d'abord une augmentation puis une diminution de la concentration de PGPM.	Frankenhausen et France (série chronologique) : ✓
- Indépendamment des micro-organismes favorisant potentiellement la croissance des plantes, y a-t-il une colonisation des sols traités par les micro-organismes contenus dans les préparations ?	Frankenhausen et France (série chronologique) : ✓

* Comparaison de différentes intensités d'application des préparations.

✓ Hypothèse confirmée ✗ Hypothèse non confirmée

Littérature

- Meissner G, Athmann M., Fritz J., Kauer R., Stoll M., Schultz H.R.: Conversion to organic and biodynamic viticultural practices : Impact on soil, grapevine development and grape quality. *OENO One*. 2019 ; 53(4)S: 639-659. DOI : 10.20870/oeno-one.2019.53.4.2470
- Giannattasio M.: Microbiological Features and Bioactivity of a Fermented Manure Product (Preparation 500) Used in Biodynamic Agriculture. *J Microbiol Biotechnol*. 2013 May ; 23(5) :644-51.
- Milke, F., Rodas-Gaitan, H., Meissner, G., Masson, V., Oltmanns, M., Möller, M., Wohlfahrt, Y., Kuliig, O., Acedo, A., Athmann, M., Fritz, J.: Enrichment of putative plant growth promoting microorganisms in biodynamic compared to organic agriculture soils. *ISME Communications*. 2024 Feb ; 4(1)
- Ollimi E., Bickel S., Wicaksono WA., Kusstatscher P., Matzer R., Cernava T., Berg G (2022) : Deciphering the microbial composition of biodynamic preparations and their effects on the apple rhizosphere microbiome. *Front. Soil Sci*. 2022 Nov ; 2:1020869. doi : 10.3389/fsoil.2022.1020869
- Ortiz-Álvarez R., Ortega-Arranz H., Ontiveros V.J., de Celis M., Ravarani C., Acedo A., et al.: Network Properties of Local Fungal Communities Reveal the Anthropogenic Disturbance Consequences of Farming Practices in Vineyard Soils. *Mackelprang R, editor. mSystems*. 2021 Jun 29 ; 6(3) : e00344-21.
- Radha TK., Rao DLN.: Plant Growth Promoting Bacteria from Cow Dung Based Biodynamic Preparations. *Indian J Microbiol*. 2014 Dec ; 54(4) :413-8.
- Raupp J., König UJ.: Biodynamic Preparations Cause Opposite Yield Effects Depending Upon Yield Levels. *Biol Agric Hort*. 1996 Jan ; 13(2) :175-88.
- Spaccini R., Mazzei P., Squartini A., Giannattasio M., Piccolo A.: Molecular properties of a fermented manure preparation used as field spray in biodynamic agriculture. *Environ Sci Pollut Res*. 2012 Nov ; 19(9) :4214-25.