

## Régulation par les Protozoaires d'une population bactérienne introduite dans le sol. Modélisation mathématique de la relation prédateur-proie

PAR

C. STEINBERG \*, G. FAURIE \*, M. ZEGERMAN \*\*, A. PAVE \*\*

\* *Écologie Microbienne, U.A. C.N.R.S. 697, Université Lyon-I*

\*\* *Biométrie, U.A. C.N.R.S. 243, Université Lyon-I*

43, Boulevard du 11 Novembre 1918 - F 69622 Villeurbanne Cedex

**Synopsis:** A comparative study on the saprophytic competence of *Bradyrhizobium japonicum* inoculated into sterile or non sterile soil has shown the role of amoebal predation in the regulation of an introduced bacterial population into the soil. A mathematical model simulating the experimental results is proposed.

**Keywords:** *Bradyrhizobium japonicum*, immunofluorescence, population dynamic, amoeba, predator-prey relationship, mathematical modellization.

### INTRODUCTION

L'utilisation des concepts de la théorie écologique au monde microbien tout comme l'emploi de micro-organismes pour tester ces concepts ne sont pas des démarches classiquement adoptées en microbiologie du sol (WIEBE, 1984). Les réticences relèvent surtout de problèmes techniques liés notamment à l'hétérogénéité de l'habitat et aux difficultés de dénombrement des micro-organismes. Le choix du (ou des) micro-organismes est dicté par la spécificité de l'activité étudiée ou par la « représentativité » de la population. L'acquisition de méthodologies, dont les limites sont connues, pour le dénombrement de ces micro-organismes, permet d'aborder l'étude de cinétiques démographiques en milieu complexe sur des micro-organismes ne développant pas obligatoirement d'activités spécifiques mesurables. L'introduction d'une souche microbienne dans un

Reçu le 17-11-86.

Accepté le 20-2-87.

sol crée une perturbation permettant la mise en évidence de l'action de facteurs écologiques ce qui présente un double intérêt fondamental et finalisé :

1. mise en place d'un modèle d'étude permettant d'appréhender les facteurs de régulation d'une population microbienne introduite ;

2. étude de l'aptitude à la survie du micro-organisme, phénomène à prendre en considération dans le cadre de la sélection de souches inoculées pour la lutte biologique, l'optimisation de cultures (légumineuses par exemple) ou de processus biologiques en épuration des eaux...

Des cinétiques de survie ont déjà été mesurées en microcosme de sol avec différentes populations bactériennes présentant un intérêt économique important, qu'il s'agisse de bactéries pathogènes comme *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae* (HABTE et ALEXANDER, 1978 ; MALLORY *et al.*, 1983), *Xanthomonas campestris* (HABTE et ALEXANDER, 1975-1978), *Agrobacterium tumefaciens* (LIANG *et al.*, 1982) ou de bactéries symbiotiques fixatrices d'azote du genre *Rhizobium* : (DANSO et ALEXANDER, 1975 ; DANSO *et al.*, 1975 ; HABTE et ALEXANDER, 1977-1978 ; OSA-AFIANA et ALEXANDER, 1979).

Les résultats obtenus par ces auteurs, par numération des bactéries sur boîtes grâce à l'obtention préalable de mutants résistants à un ou plusieurs antibiotiques, indiquent une diminution du nombre des bactéries introduites attribuée à l'action de prédation par des protozoaires ou de parasitisme par *bdellovibrio bacteriovirus* (KEYA et ALEXANDER, 1975). Cependant, les dynamiques de ces populations n'ont jamais été modélisées en milieu biologique complexe alors qu'un certain nombre de modèles mathématiques ont été proposés en milieu simplifié liquide (DENT *et al.*, 1976 ; DULOS et MARCHAND, 1984).

Dans le cadre de cette étude, le modèle biologique utilisé est *Bradyrhizobium japonicum* bactérie symbiote du soja (*Glycine max*), sélectionnée pour ses capacités fixatrices d'azote et inoculée à forte densité dans les sols français d'où elle est absente à l'origine. Le dénombrement spécifique en milieu hétérogène est réalisé par des méthodes sérologiques, outils de choix en l'absence de bactéries indigènes de même spécificité pouvant donner lieu à des réactions croisées. Ce travail s'appuie sur les recherches menées en France par CROZAT *et al.* (1982), tant au champ qu'au laboratoire et qui montrent que le niveau de survie de *Bradyrhizobium japonicum* est le même pour une souche et un sol donné, quelle que soit la valeur de l'inoculum.

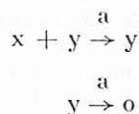
L'analyse mathématique des cinétiques de survie a permis de proposer le modèle de Gompertz comme décrivant bien les résultats expérimentaux (CORMAN *et al.*, 1986) :

$$x' = ax (\log M - \log x)$$

(avec  $x$  = taille de la population (bact.  $g^{-1}$  sol),  $a$  = constante de vitesse du processus (englobant le taux de croissance intrinsèque de la population bactérienne et la constante de cinétique, caractéristique, du processus de régulation), (temps $^{-1}$ ),  $M$  = point d'équilibre apparent de la population (bact  $g^{-1}$  sol)).

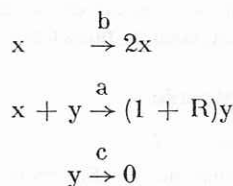
Ce modèle descriptif aide à définir les paramètres  $a$  et  $M$  qui caractérisent l'aptitude de *B. japonicum* à coloniser le sol et y survivre en l'absence de la plante hôte, ce que CHATEL et PARKER (1973) définissent comme « the saprophytic competence ».

Écrit sous la forme d'un schéma fonctionnel associé c'est à dire une représentation schématique intermédiaire entre les hypothèses émises sur la structure et/ou le fonctionnement du système et le modèle mathématique formalisé (PAVE et RECHENMANN 1985) :



(avec  $x$  = population bactérienne,  $y$  = facteur de régulation,  $a$  = constante de vitesse du processus),

ce modèle peut être comparé à un modèle prédateur-proie classique type Lotka-Volterra (VOLTERRA, 1927),



(avec  $x$  = population-proie,  $y$  = population de prédateurs,  $b$  = taux de croissance de la population-proie,  $a$  = paramètre d'interaction prédateur-proie,  $R$  = paramètre de rendement de croissance du prédateur,  $c$  = taux de mortalité du prédateur) où la reproduction de la proie et du prédateur sont négligeables ( $b \approx 0$  et  $R \approx 0$ ).

Ceci nous a amené à proposer l'hypothèse d'une régulation par les protozoaires et notamment les amibes, souvent considérées comme les consommateurs majeurs de bactéries dans les sols. (ALEXANDER, 1981 ; CLARHOLM, 1981 ; DANSO *et al.*, 1975, PUSSARD, 1971).

Notre objectif est donc :

1. de conduire une étude expérimentale afin de vérifier l'intervention d'un facteur biotique et de valider l'hypothèse de la prédation.

La démarche consiste en une approche comparative en sol stérilisé ou non, additionné ou non d'une microflore bactérienne ou d'une aliquote de sol, et en sol non stérile, inoculé ou non par *B. japonicum*,

2. d'élaborer un modèle mathématique de la relation prédateur-proie.

## I. — MATÉRIEL ET MÉTHODES

### A) Souche.

*Bradyrhizobium japonicum* souche G<sub>2</sub>sp, mutant spontané de la souche G<sub>2</sub> (311 b 125 USDA Beltsville) résistant à la spectinomycine.

### B) Sol.

Sol limono-argileux dont les principales propriétés physico-chimiques sont : argiles 31,4 % ; limons 36,4 % ; sables 32,2 % ; carbone organique 26,4 %, rapport C/N 7,6 ; pH 6,2.

### C) Conditions expérimentales.

Les expérimentations sont menées en incubation de sol maintenu à la capacité au champ (40 % d'humidité) à 28° C en fioles type vase de Léonard (VINCENT, 1970) placées dans des enceintes stériles (300 g de sol sec par fiole). Pour les études en milieu axénique, le sol est stérilisé par irradiation à 2,5 Mrad (Conservatome S.A. - DAGNEUX - F 01200 MONTLUEL) et utilisé après huit semaines de stabilisation (RAMSAY et BAWDEN, 1983). Dans tous les microcosmes de sol, l'humidité évolue de 40 à 50 % pendant la période d'incubation. Les inoculations sont réalisées à partir d'une culture de *B. japonicum* entretenue sur milieu YEM liquide (VINCENT, 1970), concentrée et lavée dans un tampon physiologique (NaCl 8,5 g, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O 2,7 g, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 0,4 g, eau distillée 1 000 ml) par centrifugation 15 mn à 5 000 g et pulvérisée aseptiquement sur le sol.

La microflore bactérienne complexe réintroduite en sol stérilisé (expérience 2) est extraite du sol comme suit : 5 g de sol sont immergés dans 50 ml d'une solution aqueuse stérile à 300 µg ml<sup>-1</sup> de cycloheximidine. Après agitation et incubation pendant 24 heures à 28° C, le surnageant de la suspension est filtré stérilement sur filtre 0,8 µm. 10 ml de ce filtrat sont ensuite pulvérisés aseptiquement sur chaque échantillon de sol.

### D) Protocole.

- *Expérience 1.*

— croissance de *B. japonicum* après inoculation à une densité de 10<sup>4</sup> bact. g<sup>-1</sup> sol sec (3 répétitions) et de 10<sup>8</sup> bact. g<sup>-1</sup> sol sec (2 répétitions) en sol stérilisé.

- *Expérience 2.*

— croissance de *B. japonicum* inoculé à une densité de 10<sup>8</sup> bact. g<sup>-1</sup> sol sec et de la microflore bactérienne indigène réintroduite (10<sup>7</sup> bact. g<sup>-1</sup> sol sec), en sol stérilisé (3 répétitions).

- *Expérience 3.*

— croissance de *B. japonicum* inoculé à une densité de 10<sup>8</sup> bact. g<sup>-1</sup> sol sec et des amibes indigènes en sol non stérile (3 répétitions).

— croissance des amibes indigènes en sol non stérile non inoculé (= témoin, 1 répétition).

- *Expérience 4.*

— croissance de *B. japonicum* inoculé en sol stérile (10<sup>8</sup> bact. g<sup>-1</sup>) et des amibes indigènes réintroduites 35 jours plus tard avec du sol non stérile (10 g sol sec) (2 répétitions).

### E) Dénombrement.

Des prélèvements de 10 g de sol sont réalisés pour chaque numération de bactéries et d'amibes.

Le dénombrement de *B. japonicum* est conduit par la méthode d'immunofluorescence (SCHMIDT, 1974) adaptée pour une mise en évidence indirecte des antigènes bactériens : après extraction des bactéries et concentration sur filtres 0,4 µm, ces derniers sont soumis à deux incubations successives : dans un premier temps, en présence d'anticorps antibactériens préparés sur lapin, puis après rinçage, en présence d'anticorps anti IgG de lapin marqués à l'isothiocyanate de fluorescéine. Cette technique entraîne un taux de récupération des bactéries qui est faible mais constant (30 %) (CROZAT et CLEYET-MAREL, 1984). Si le seuil de sensibilité reste élevé (10<sup>4</sup> bact. g<sup>-1</sup> sol), problème également rencontré avec les méthodes classiques de comptage sur boîtes ou d'estimation du nombre le plus

probable (MPN), cette technique présente l'avantage d'allier la spécificité et la sensibilité sérologique à la précision de l'observation microscopique et permet des dénombrements directs dans le sol de manière reproductible (CLEYET-MAREL et CHESSEL, 1978). La microflore bactérienne réintroduite est dénombrée par la méthode classique du comptage sur boîte à raison de 3 répliques par niveau de dilution. Le nombre d'amibes indigènes du sol est estimé d'après la méthode de SINGH (1946), méthode indirecte, non spécifique, qui exige de nombreuses répétitions et ne permet pas de distinguer les trophozoïtes des kystes.

## II. — RÉSULTATS - DISCUSSIONS

### A) Validation de l'hypothèse prédation.

#### • Expérience 1.

La stabilisation, après une courte phase de croissance de la population de *B. japonicum* à une densité élevée ( $10^8$  bact.  $g^{-1}$  sol) proche de l'inoculum initial en sol stérilisé (Fig. 1) et la croissance de  $10^4$  à  $10^8$  bact.  $g^{-1}$  sol dans le cas d'un faible inoculum montrent que les facteurs abiotiques ne sont pas limitants jusqu'à cette densité et que le stress de l'inoculation n'intervient pas sur la survie des bactéries. Cette valeur à laquelle le taux de croissance compense le taux de mortalité détermine la capacité biotique  $K$  du milieu pour cette souche dans ce sol et a donc été retenue comme valeur d'inoculation pour les expériences ultérieures. La légère différence entre les niveaux de survie atteints selon les valeurs des inoculums en sol stérilisé s'explique par la quantité de substrat que constitue un fort inoculum, le « substrat bactérien » étant recyclé en permanence. En effet, on est maintenant amené à supposer que la population bactérienne inoculée peut utiliser les ressources du milieu (substrat  $s$ ) pour assurer sa croissance qui est supposée logistique et dont le schéma fonctionnel correspondant est :

$$x + s \xrightarrow{b} (1 + R) x$$

( $s$  = substrat,  $b$  = taux de croissance de la population-proie  $x$ ,  $R$  = rendement de croissance de cette population).

Si le processus de mortalité bactérienne ( $d$ ) est accompagné d'une libération de ressources ( $s$ ) dans le milieu

$$x \xrightarrow{d} ps$$

( $p$  = coefficient du processus de production de substrat) et si  $p \approx 1/R$ , la combinaison des deux processus conduit encore à un modèle logistique avec :  $K = Rs_0 + x_0 - b/d$  (PAVE et RECHENMANN, 1985) ( $K$  : capacité biotique du milieu,  $s_0$  : substrat initial présent dans le sol incluant la contribution de l'inoculum,  $x_0$  : densité de l'inoculum).

#### • Expérience 2

Dans le sol stériliséensemencé par une microflore bactérienne complexe puis inoculé par *B. japonicum*, la population de *B. japonicum* se maintient à une valeur légèrement inférieure à  $10^8$  bact.  $g^{-1}$  sol, alors que la microflore

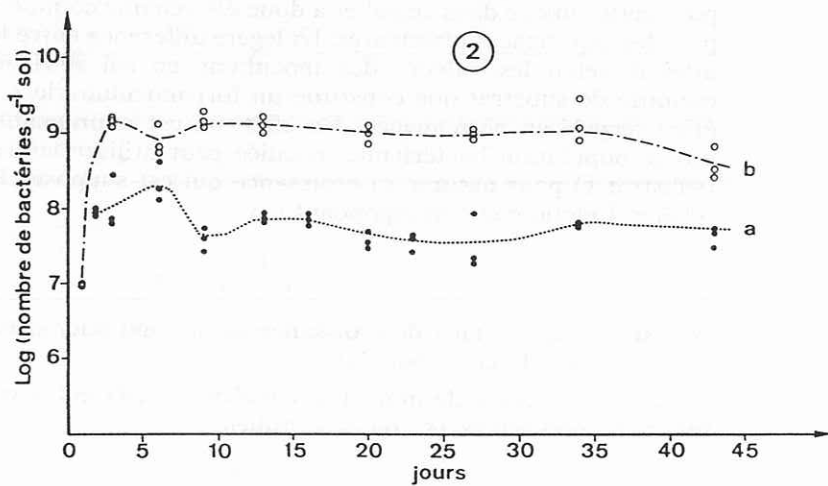
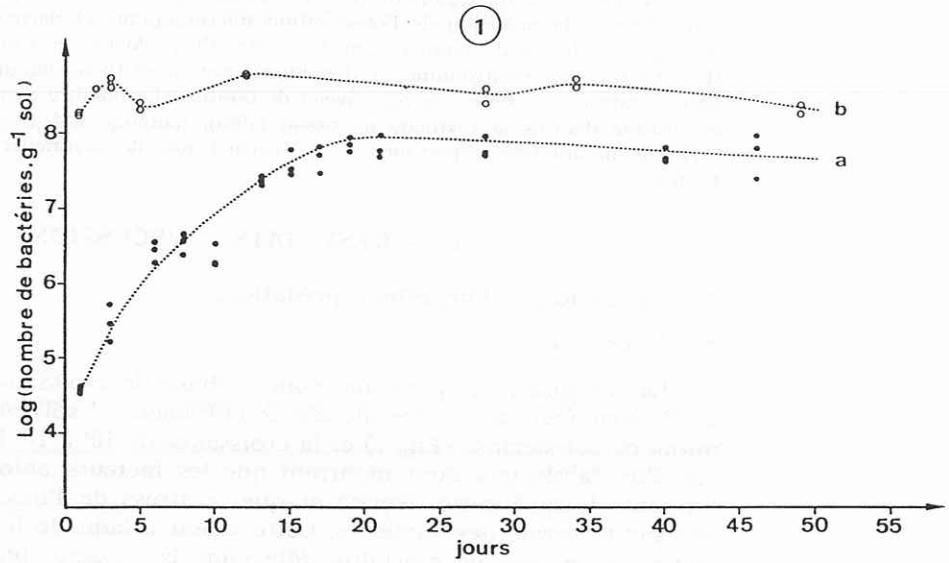


FIG. 1. — Dynamique de la population de *B. japonicum* inoculée à  $10^4$  (a) et  $10^5$  (b) bact.  $g^{-1}$  dans le sol stérilisé.

FIG. 2. — Dynamique de la population de *B. japonicum* (a) inoculée en sol stérilisé additionné d'une microflore bactérienne indigène (b).

associée se développe jusqu'à  $10^9$  bact.  $g^{-1}$  (Fig. 2). Celle-ci se multiplie activement dans cet environnement enrichi en cadavres microbiens après l'irradiation, phénomène comparable à celui observé avec la méthode d'estimation de la biomasse d'un sol (JENKINSON et POWLSON, 1976).

De tels résultats suggèrent que la compétition pour le substrat exerce une certaine pression sur la population de *B. japonicum* mais n'est en aucun cas responsable du déclin jusqu'à  $10^5$  bact.  $g^{-1}$  sol observé en sol non stérile

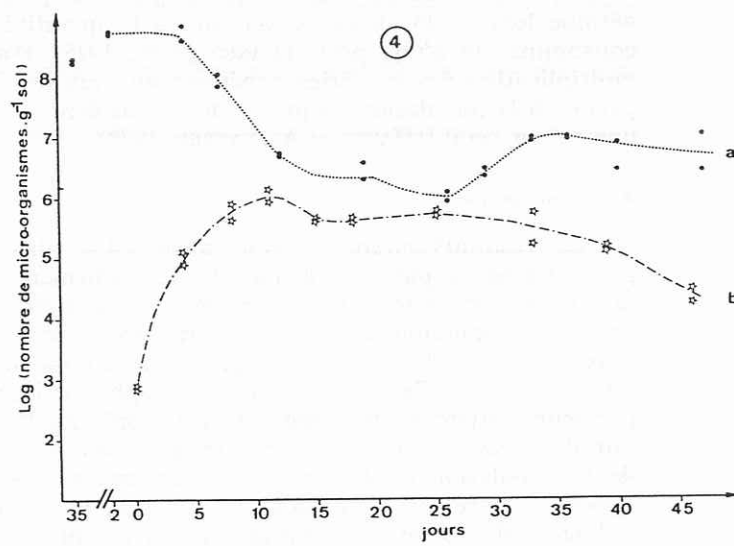
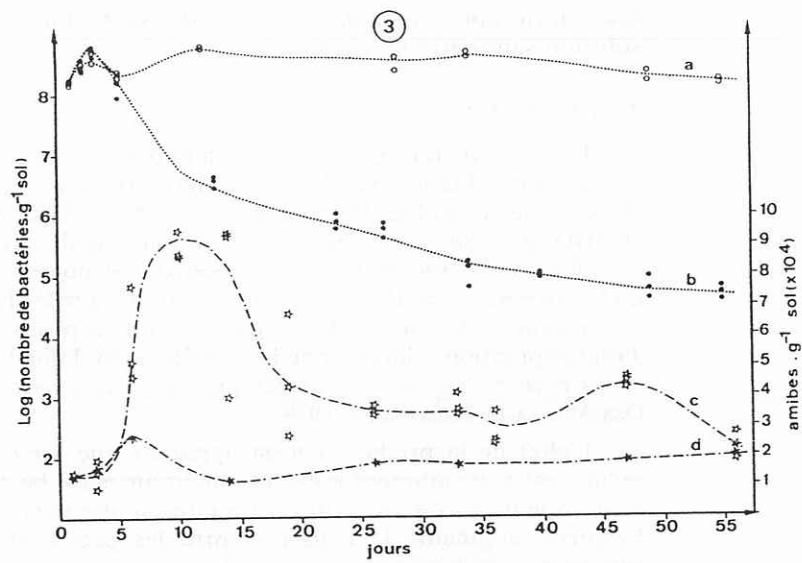


FIG. 3. — Comparaison des cinétiques de survie de *B. japonicum* en sol stérilisé (a) ou non (b) et dynamique du peuplement d'amibes indigènes en sol non stérile inoculé (c) ou non (d) par *B. japonicum*.

FIG. 4. — Dynamique de la population de *B. japonicum* (a) et du peuplement d'amibes (b) dans le sol stérilisé ensemencé par du sol non stérile 35 jours après l'inoculation par *B. japonicum*.

(Fig. 3). DANSO et ALEXANDER (1974) ont abouti à cette même conclusion en mettant en évidence les faibles exigences nutritionnelles de *Rhizobium meliloti* qui survit après inoculation dans du sable humide stérilisé ou dans une solution sans carbone ni azote.

- *Expérience 3*

En sol non stérile, le déclin de la population bactérienne est en accord avec les résultats obtenus par d'autres auteurs travaillant sur le pouvoir saprophyte de bactéries inoculées (BEZDICEK et DONALDSON, 1980 ; CROZAT *et al.*, 1982 ; VIDOR et MILLER, 1980). L'absence de variations significatives du nombre d'amibes en sol non inoculé et l'augmentation de ce nombre, concomitante au déclin de la population de *B. japonicum* en sol non stérile (Fig. 3) mettent en évidence et confirment le rôle de la prédation par les protozoaires dans la régulation d'une population microbienne introduite, quand une humidité suffisante permet à ces rhizopodes de se déplacer pour capturer leurs proies (CLARHOLM, 1983 ; OSA-AFIANA et ALEXANDER, 1979).

L'effet de la prédation n'est apparent que lorsque le nombre de *B. japonicum* est suffisamment élevé et supérieur à  $10^5$  bact.  $g^{-1}$  sol, ce qui ne représente que 0,1 % de l'inoculum. En effet, d'une part une trop faible densité de bactéries augmente la distance entre les proies et diminue les chances de rencontre prédateur-proie, ce qui impose au prédateur une dépense énergétique lors de la chasse supérieure à la quantité d'énergie obtenue par la consommation d'une proie (DANSO *et al.*, 1975). D'autre part, un pouvoir de multiplication des bactéries supérieur au taux de prédation des protozoaires permet à la population de proies de ne pas être éliminée et de se maintenir à une valeur seuil (HABTE et ALEXANDER, 1978).

- *Expérience 4*

Les résultats obtenus dans le cas du sol stérilisé, inoculé par *B. japonicum* puisensemencé par du sol non stérile confirment les précédents (Fig. 4). Il faut cependant noter que le nombre de *B. japonicum* ne diminue que 5 jours après l'introduction de sol non stérile alors que le peuplement d'amibes se développe immédiatement. Le régime osmotrophe des amibes n'étant qu'exceptionnel (STOUT, 1973), l'explosion démographique des amibes ( $\times 1000$ ) s'explique par leur activité essentiellement bactériophage. En raison du faible nombre initial de ces amibes, cette activité n'est sans doute pas décelable au niveau de la population de *B. japonicum*. Cependant, l'addition de sol non stérile apporte, outre des protozoaires, un certain nombre de microorganismes indigènes du sol qui se multiplient activement (cf. Fig. 2, développement du peuplement bactérien réintroduit), sur le substrat non utilisé par la population de *B. japonicum*. Il est vraisemblable que les amibes exercent leur prédation sur la microflore totale se développant dans leur proximité immédiate et donc plus facilement accessible. La population de *B. japonicum* est alors moins affectée que dans le cas du sol non stérile. De plus, le substrat plus abondant autorise un taux de multiplication des bactéries supérieur, leur permettant de soutenir une plus forte pression de prédation (HABTE et ALEXANDER, 1978 ; MALLORY *et al.* 1983), ce qui explique que les niveaux de survie des populations proies et prédateurs soient plus élevés.



L'hétérogénéité du milieu et la position de « premier occupant » pour un peuplement bactérien (microflore indigène dans l'expérience 3) ou une population bactérienne (*B. japonicum* dans l'expérience 4) entraînent une possibilité de refuge pour ces proies qui peuvent être localisées à l'intérieur des agrégats (NISHIO *et al.*, 1968 ; VARGAS et HATTORI, 1986), barrières physiques qui jouent un rôle dans la coexistence. L'évolution d'une forme de bâtonnet vers une forme sphérique plus réduite de *B. japonicum* observée en fin d'incubation (après 30 jours) peut être interprétée comme une adaptation morphologique ou physiologique à la survie. Ces modifications pariétales augmenteraient l'adhésion des micro-organismes aux particules (KJELLEBERG, 1984).

Ces résultats ne mettent pas en évidence la sélectivité alimentaire des amibes et la non comestibilité des bactéries du genre *Rhizobium* par ces amibes décrites par SINGH (1942-1945), ANSCOMBE et SINGH (1948) mais révèlent plutôt leur aptitude à se nourrir de divers genres bactériens même « exotiques » en fonction de leur abondance et de leur disponibilité relative.

Il faut noter que la consommation des bactéries par les protozoaires peut entraîner une excréation dans le milieu de nutriments comme par exemple le phosphore ou l'ammonium. Cette libération stimule la croissance microbienne et favorise la minéralisation et le turn over de tels éléments dans la mesure où le carbone n'est pas limitant (BARSDATE *et al.*, 1974 ; CLARHOLM, 1985 ; COLEMAN *et al.*, 1983 ; HUNT *et al.*, 1984).

### B) Proposition d'un modèle mathématique de la relation prédateur proie.

Les résultats expérimentaux obtenus ont permis de proposer un modèle de type explicatif qui n'est pour l'instant qu'un modèle de simulation dérivé du modèle classique de Lotka-Volterra (VOLTERRA, 1927). Son écriture sous la forme de son schéma fonctionnel associé est la suivante :

$$x + s \xrightarrow{b} (1 + R_1)x \quad (1)$$

$$x + y \xrightarrow{a} (1 + R_2)y + p_1s \quad (2)$$

$$y \xrightarrow{c} p_2s \quad (3)$$

(avec  $x$  = population-proie (bactéries),  $y$  = population de prédateurs (protozoaires),  $s$  = substrat,  $b$  = taux de croissance intrinsèque des proies (bactéries),  $a$  = taux de croissance des prédateurs,  $c$  = taux de mortalité des prédateurs,  $R_1$  et  $R_2$ , termes de rendement d'utilisation du substrat (substances dissoutes pour les bactéries, proies pour les protozoaires),  $p_1$  et  $p_2$  = termes de production de substrat libéré dans le milieu).

En comparant avec le modèle de Lotka-Volterra, on voit clairement les hypothèses introduites : (1) croissance de type logistique de la bactérie ( $x$ ) sur un substrat limitant ( $s$ ) (2) croissance des amibes ( $y$ ) sur les proies ( $x$ ) (3) les prédateurs étant soumis à un processus de mortalité de type exponentiel, (2 et 3) production de substrat excrété par les protozoaires lors de la prédation ( $p_1$ ) ou lors de la lyse des cadavres ( $p_2$ ).

La transformation du schéma fonctionnel conduit d'abord à un système différentiel de dimension 3 :

$$\begin{aligned}x' &= bR_1xs - axy \\y' &= aR_2xy - cy \\s' &= -bxs + p_1axy + p_2cy\end{aligned}\quad (4)$$

Puisque la variable ( $s$ ) ne peut être observée et mesurée expérimentalement, on l'élimine en faisant apparaître des termes connus dans son expression :

$$\begin{aligned}s' &= -bxs + (a/R_1xy - a/R_1xy) + p_1axy + p_2cy \\s' &= -1/R_1x' - a(p_1 - 1/R_1)xy + p_2cy\end{aligned}\quad (5)$$

En remplaçant, dans (4),  $s$  par sa valeur déduite de (5) par intégration, on obtient le système intégro-différentiel suivant :

$$\begin{aligned}x' &= rx(1 - x/K - d\int_0^t xy \, du + e\int_0^t y \, du) - axy \\y' &= (aR_2x - c)y\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{avec : } K &= R_1s_0 + x_0 \\d &= a/KR_1(1 - R_1p_1) \\e &= c/K R_1p_2 \\r &= bK\end{aligned}$$

Parmi les solutions du modèle, certaines fournissent des courbes de dynamique (simulées avec des valeurs plausibles des paramètres) analogues à celles observées expérimentalement (Fig. 5). Ce modèle n'a pas la prétention d'avoir une valeur théorique générale mais il représente une situation expérimentale particulière. Le changement de conditions, l'énoncé de nouvelles hypothèses conduisent à faire évoluer la formulation mathématique comme par exemple le passage du modèle de Gompertz au modèle prédateur-proie par l'introduction de l'hypothèse vérifiée du prédateur et dont l'originalité réside aussi dans l'hypothèse (très vraisemblable) de la libération de ressources réutilisables par les bactéries. Il faut aussi noter l'intérêt de la représentation de type schéma fonctionnel comme support intermédiaire avant la formalisation mathématique.

### III. — CONCLUSION

Les données obtenues au cours de cette étude sur la dynamique de populations bactériennes introduites dans un sol montrent que la prédation par les protozoaires est un facteur clé de la régulation de ces populations.

Les phénomènes de compétition, même s'ils interviennent peu dans ce cas ne doivent pas être négligés, de même que la notion de refuge ou le phénomène de choix alimentaire. C'est pourquoi, le modèle que nous proposons n'est pour l'instant qu'un modèle simulant qualitativement les résultats observés et qui doit être validé par une étude expérimentale en milieu simplifié.

Une telle démarche confirme que les micro-organismes peuvent être un outil d'étude intéressant en biologie des populations. Par leur temps de génération court, leur sensibilité aux pressions du milieu, ils autorisent des expérimentations répétées au laboratoire en conditions contrôlées même si les méthodologies demeurent lourdes.

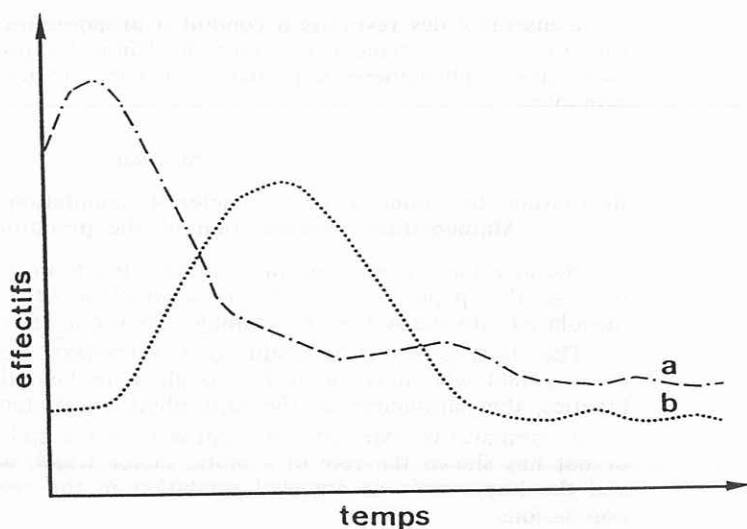


FIG. 5. — Dynamique de la relation prédateur-proie obtenue par simulation à l'aide du modèle présenté avec des valeurs plausibles des paramètres. (a) population de proies, (b) population de prédateurs.

Une meilleure connaissance du comportement des micro-organismes en situations d'interactions dans un milieu hétérogène comme le sol a des retombées importantes sur le plan appliqué ; l'amélioration des qualités biologiques d'un système par introduction de souches implique une étude de la variabilité quantitative et des mécanismes de régulation qui doit se poursuivre par une recherche sur la variabilité qualitative.

#### RÉSUMÉ

Les inoculations de souches bactériennes en milieux complexes présentent un intérêt théorique et appliqué, aussi les variations quantitatives d'une population de *Bradyrhizobium japonicum* introduite dans le sol ont été dénombrées en fonction du temps par la technique des anticorps fluorescents.

Cette étude s'appuie sur les travaux de CLEYET-MAREL et CROZAT (1982), et CORMAN *et al.* (1986) qui ont défini les paramètres du pouvoir saprophyte de cette bactérie en utilisant un modèle mathématique des cinétiques de survie.

Des approches expérimentales comparatives en sol stérilisé ou non, inoculé ou non, montrent l'intervention de facteurs biotiques et le rôle important de la prédation comme facteur de régulation :

- en sol stérilisé, la population bactérienne se maintient à la capacité biotique ou à une valeur légèrement inférieure en situation de compétition,
- en sol non stérile, on note une augmentation du peuplement d'amibes indigènes lors du déclin de la population bactérienne introduite.

L'introduction de sol non stérile dans du sol stérilisé et inoculé par *B. japonicum* permet la mise en évidence des notions de proies alternatives, de refuge et de colonisation des agrégats de sol.

L'ensemble des résultats a conduit à proposer un modèle mathématique de la relation prédateur-proie permettant de définir les processus élémentaires intervenant dans ce phénomène de prédation et d'obtenir une famille de paramètres inter-prétables.

#### SUMMARY

#### Regulation by amoeba of a bacterial population introduced into the soil. Mathematical modellization of the predator-prey relationship.

Because the introduction of bacterial strains into complex media is of a great interest, this paper deals with the survival of *Bradyrhizobium japonicum* when inoculated into the soil as determined by the fluorescent antibody technique.

The study goes on the results of CLEYET-MAREL and CROZAT (1982) and CORMAN *et al.* (1986) who have defined through a mathematical analysis of the survival kinetics, the parameters of the saprophytic competence of this bacteria.

A comparative experimental approach in the soil, sterilized or not, inoculated or not has shown the role of a biotic factor which was not bacterial competition and the importance of amoebal predation in the regulation of the soil bacterial populations:

(i) in a sterilized soil: the introduced bacterial population kept at the soil biotique capacity ( $10^8$  bact.  $g^{-1}$  soil) or just below in the case of competition conditions,

(ii) in a non sterile soil, the introduced bacterial population was decreasing from  $10^8$  to less than  $10^5$  bact.  $g^{-1}$  soil while conversely, the indigeneous amoeba were increasing from  $10^4$  to  $10^5$  amoeba  $g^{-1}$  soil.

The addition of some non sterile soil into inoculated sterilized soil showed that secondary phenomena were likely to occur such as the grazing on alternative preys, or the colonization of the soil aggregates which could act as a refuge for the preys.

All the experimental results led us to propose a mathematical model of this predator prey relation, allowing to define the parameters to identify experimentally.

#### REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient J.-C. CLEYET-MAREL (INRA Montpellier), M. M. COÛTEAUX (Muséum Brunoy), M. PUSSARD (INRA Dijon) pour les fructueuses discussions et A. DORIER (IUT Biologie Appliquée Lyon) pour la réalisation des sérums. Ce travail a été effectué dans le cadre de l'ATP « Biologie des Populations » et de la RCP « Les Protistes dans les Chaînes Trophiques ».

#### BIBLIOGRAPHIE

- ALEXANDER (M.), 1981. — Why microbial predators and parasites do not eliminate their prey and host? *Ann. Rev. Microbiol.*, 35: 113-133.
- ANSCOMBE (F. S.) & SINGH (B. N.), 1948. — Limitations of bacteria by micropredators in soils. *Nature*, 161: 140-141.
- BARSDATE (R. J.), PRENTKI (R. T.) & FENCHEL (T.), 1974. — Phosphorus cycle of model ecosystems: significance for decomposer food chain and effect of bacterial grazers. *Oikos*, 25: 239-251.
- BEZDICEK (D. F.) & DONALDSON (M. D.), 1980. — Flocculation of *Rhizobium* from soil colloids for enumeration by immunofluorescence. in: *Microbial adhesion to surfaces*. Chap. 16, 3-5 sept. 1980. University of Reading, 297-308.

- CHATEL (D. L.), PARKER (C. A.), 1973. — Survival of field grown Rhizobia over the dry summer period in western Australia. *Soil Biol. Biochem.*, **4**: 415-423.
- CLARHOLM (M.), 1981. — Protozoan grazing of bacteria in soil: impact and importance. *Microb. Ecol.*, **7**: 343-350.
- CLARHOLM (M.), 1983. — Dynamics of soil bacteria in relation to plants, protozoa and inorganic nitrogen. In: *Report 17: Swedish University of Agricultural Sciences*, Uppsala, 1983.
- CLARHOLM (M.), 1985. — Interactions of bacteria, protozoa and plants leading to mineralization of soil nitrogen. *Soil Biol. Biochem.*, **17**: 181-187.
- CLEYET-MAREL (J. C.) & CHESSEL (D.), 1978. — Méthode de dénombrement de *Rhizobium japonicum* par immunofluorescence. Analyse statistique des comptages. *Ann. Phytopath.*, **10**: 219-231.
- CLEYET-MAREL (J.-C.) & CROZAT (Y.), 1982. — Étude écologique en immunofluorescence de *Rhizobium japonicum* dans le sol et la rhizosphère. *Agron.*, **2**: 243-248.
- COLEMAN (D. C.), REID (C. P. P.) & COLE (C. V.), 1983. — Biological strategies of nutrient cycling in soil systems. In: *McFayden A. & Ford (Ed.) Advances in ecological research*, vol. 13 Academic Press, London, 1-55.
- CORMAN (A.), CROZAT (Y.) & CLEYET-MAREL (J. C.), 1986. — Characterization of the saprophytic potential of *Rhizobium japonicum* strains in different soils. *Soil Biol. Fertil.* (in press).
- CROZAT (Y.) & CLEYET-MAREL (J. C.), 1984. — Problèmes méthodologiques posés par l'extraction et la récupération des bactéries telluriques pour leur quantification en immunofluorescence. *Agron.*, **4**: 603-610.
- CROZAT (Y.), CLEYET-MAREL (J. C.), GIRAUD (J. J.) & OBATON (M.), 1982. — Survival rates of *Rhizobium japonicum* populations introduced into different soils. *Soil Biol. Biochem.*, **14**: 401-405.
- DANSO (S. K. A.) & ALEXANDER (M.), 1974. — Survival of two strains of *Rhizobium* in soil. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, **38**: 86-89.
- DANSO (S. K. A.) & ALEXANDER (M.), 1975. — Regulation of predation by prey density. The protozoan-*Rhizobium* relationship. *Appl. Microbiol.* **29**: 515-521.
- DANSO (S. K. A.), KEYS (S. O.) & ALEXANDER (M.), 1975. — Protozoa and the decline of *Rhizobium* populations added to soil. *Can. J. Microbiol.*, **21**: 884-895.
- DENT (V. E.), BAZIN (M. J.) & SAUNDERS (P. T.), 1976. — Behaviour of *Dictyostelium discoideum* amoebae and *Escherichia coli* grown together in chemostat culture. *Arch. Microbiol.*, **109**: 187-194.
- DULOS (E.) & MARCHAND (A.), 1984. — Oscillation des densités de population du couple bactérien proie-prédateur *Escherichia coli*-*Bdellovibrio bacteriovorus* : étude expérimentale et théorique. *Ann. Microbiol. Inst. Pasteur*, **135 A**: 271-295.
- HABTE (M.) & ALEXANDER (M.), 1975. — Protozoa as agents responsible for the decline of *Xanthomonas campestris* in soil. *Appl. Microbiol.*, **29**: 159-164.
- HABTE (M.) & ALEXANDER (M.), 1977. — Further evidence for the regulation of bacterial populations in soil by protozoa. *Arch. Microbiol.*, **113**: 181-183.
- HABTE (M.) & ALEXANDER (M.), 1978. — Mechanisms of persistence of low numbers of bacteria preyed upon by protozoa. *Soil Biol. Biochem.*, **10**: 1-6.
- HUNT (H. W.), COLEMAN (D. C.), COLE (C. V.), INGHAM (R. E.), ELLIOTT (E. T.) & WOODS (L. E.), 1984. — Simulation model of food web with bacteria, amoebae and nematodes in soil, In: *KLUG M. J. & REDDY C. A. (Ed.) Current Perspectives in Microbial Ecology: Proceeding of the Third International Symposium on Microbial Ecology, Michigan State University 7-12 August 1983*. ASM, Washington DC 1984: 346-352.
- JENKINSON (D. S.) & POWLSON (D. J.), 1976. — The effects of biocidal treatments on metabolisms in soil. A method for measuring soil biomass. *Soil Biol. Biochem.*, **8**: 209-213.

- KEYA (S.O.) & ALEXANDER (M.), 1975. — Regulation of parasitism by host density: the *Bdellovibrio-Rhizobium* relationship. *Soil Biol. Biochem.*, 7: 231-237.
- KJELLEBERG (S.), 1984. — Effects of interfaces on survival mechanisms of copiotrophic bacteria in low nutrients habitats. In: KLUG M.J. & REDDY C.A. (ed.) *Current Perspectives in Microbial Ecology: Proceeding of the Third International Symposium on Microbial Ecology, Michigan State University 7-12 August 1983*. ASM, Washington DC 1984: 151-160.
- LIANG (L.), SINCLAIR (J.L.), MALLORY (L.M.) & ALEXANDER (M.), 1982. — Fate in model ecosystem of microbial species of potential use in genetic engineering. *Appl. Environ. Microb.*, 44: 708-714.
- MALLORY (L.M.), CHANG (S.Y.), LI (N.) & ALEXANDER (M.), 1983. — Alternative prey: a mechanism for elimination of bacterial species by protozoa. *Appl. Environ. Microbiol.*, 46: 1073-1079.
- NISHIO (M.), HATTORI (T.) & FURUSAKA (C.), 1968. — The growth of bacteria in sterilized soil aggregates. *Rep. Inst. Agr. Res. Tohoku Univ.*, 19: 37-43.
- OSA-AFIANA (L.O.) & ALEXANDER (M.), 1979. — Effect of moisture on the survival of *Rhizobium* in soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 43: 925-930.
- PAVE (A.) & RECHENMANN (F.), 1985. — Computer Aided Modelling in Biology: An Artificial Intelligence Approach. In: « *Artificial Intelligence and Simulation* », *Soc. for Comput. Simul. (Special issue)*.
- PUSSARD (M.), 1971. — Les protozoaires du sol. In: GAUTHIER-VILLARS (Ed.) *La vie dans les sols : Aspects nouveaux, études expérimentales*, Paris : 147-186.
- RAMSAY (A.J.) & BAWDEN (A.D.), 1983. — Effects of sterilization and storage on respiration, nitrogen status and direct counts of soil bacteria using acridine orange. *Soil Biol. Biochem.*, 15: 263-268.
- SCHMIDT (E.L.), 1974. — Quantitative autecological study of microorganisms in soil by immunofluorescence. *Soil Science*, 118: 141-149.
- SINGH (B.N.), 1942. — Selection of bacterial food by soil amoeba. *Ann. Appl. Biol.*, 29: 18-22.
- SINGH (B.N.), 1945. — The selection of bacterial food by soil amoeba and the toxic effects of bacterial pigments and other products on soil protozoa. *Brit. J. Exp. Path.*, 26: 316-325.
- SINGH (B.N.), 1946. — A method of estimating the number of soil protozoa, especially amoebae, based on their differential feeding on bacteria. *Ann. Appl. Biol.*, 33: 112-119.
- STOUT (J.D.), 1973. — The relationship between protozoan populations and biological activity in soils. *Amer. Zool.*, 13: 193-201.
- VARGAS (R.) & HATTORI (T.), 1986. — Protozoan predation of bacterial cells in soil aggregates. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 38: 233-242.
- VIDOR (C.) & MILLER (R.H.), 1980. — Relative saprophytic competence of *Rhizobium japonicum* strains in soils as determined by the quantitative fluorescent antibody technique (FA). *Soil Biol. Biochem.*, 12: 483-487.
- VINCENT (J.M.), 1970. — *A manual for the practical study of root nodule bacteria*. BLACKWELL SCI. OXFORD, Edinburgh.
- VOLTERRA (V.), 1927. — Variations and fluctuations of populations size in coexisting animal species. In: *Applicable mathematics of non physical phenomena (1982) Oliviera-Pinto F., Conolly B.W., Ellis Horwood Series*: 19-115.
- WIEBE (W.J.), 1984. — Some potentials for use of microorganisms in ecological theory. In: KLUG M.J. & REDDY C.A. (Ed.) *Current Perspectives in Microbial Ecology: Proceeding of the Third International Symposium on Microbial Ecology, Michigan State University 7-12 August 1983*. ASM, Washington DC 1984: 17-21.