

L'apport des techniques de la biologie moléculaire à la connaissance de la biodiversité microbienne dans les sols et de ses fonctions.



L. RANJARD
UMR Agroécologie-Plateforme GenoSol
INRA Dijon

Vendredi 6 avril 2012



ALIMENTATION
AGRICULTURE
ENVIRONNEMENT



Les sols...une « énorme » diversité biologique!

Faune du sol

Racines de plantes

Micro-algues



Microorganismes du sol

- Bactéries
- Champignons
- Virus

ALIMENTATION

AGRICULTURE

ENVIRONNEMENT

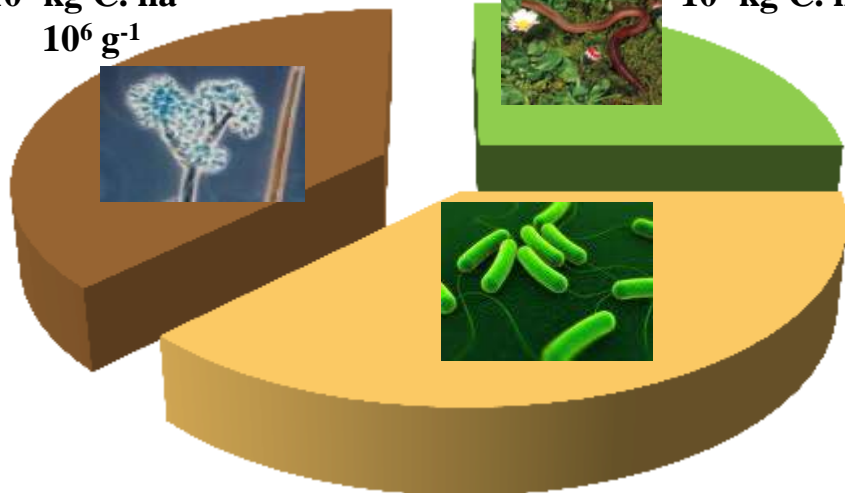


Biomasse vivante du sol

Champignons

$10^3 \text{ kg C. ha}^{-1}$

10^6 g^{-1}



Faunes

$10^3 \text{ kg C. ha}^{-1}$

Bactéries

$10^3 \text{ kg C. ha}^{-1}$

10^9 g^{-1}

Biodiversité du sol

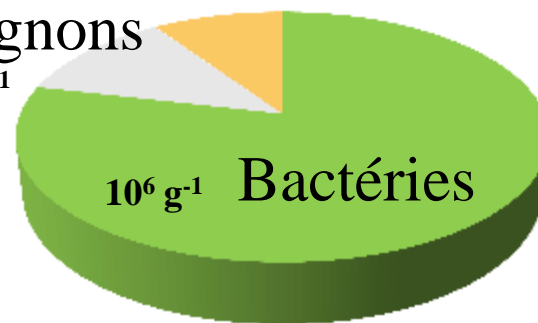


Champignons

$10^4 - 10^5 \text{ g}^{-1}$



Faunes $10^2 - 10^4 \text{ g}^{-1}$



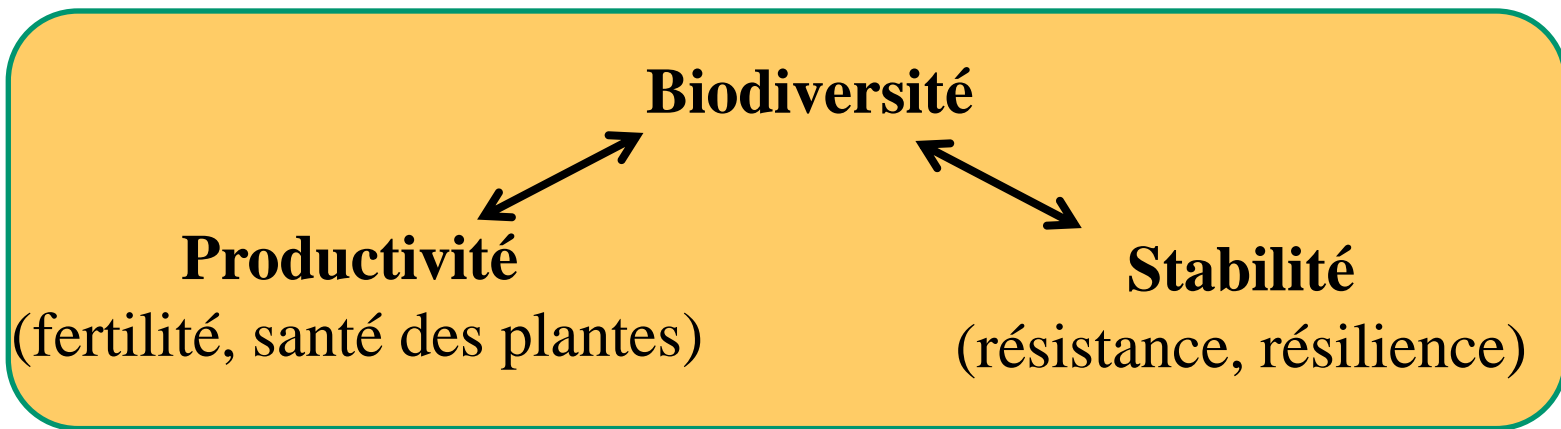
10^6 g^{-1} Bactéries



Sol = dernier bastion de la biodiversité

La biodiversité – une assurance pour l’avenir !

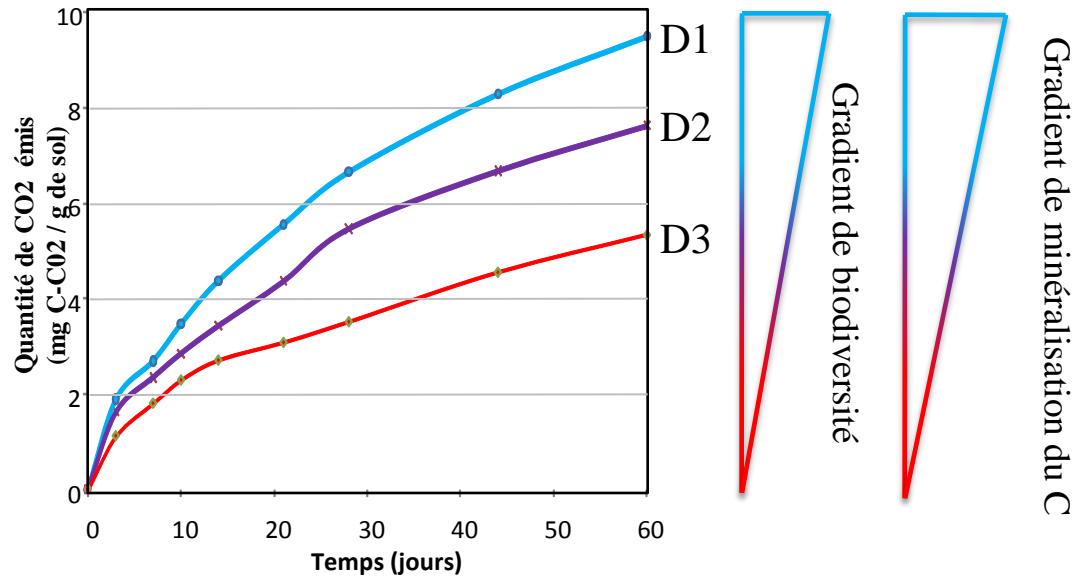
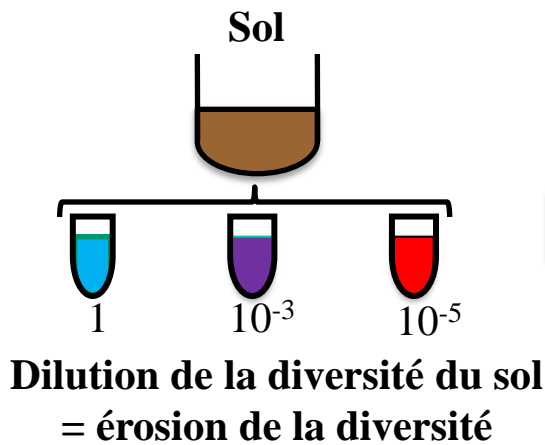
Une loi écologique forte : l’assurance écologique (Loreau 2000)



DURABILITE
(des productions, du patrimoine biologique)

Biodiversité = assurance à court et moyen termes

Lien biodiversité – minéralisation de la matière organique du sol



Erosion de la biodiversité du sol = réduction de la minéralisation de la MO



**Baisse de la fertilité du sol
(eutrophisation, acidification, déstructuration du sol...)**

Maron et al. INRA Dijon

Lien biodiversité –productivité primaire

29 jours

43 jours

63 jours

Sol natif



Sol stérile



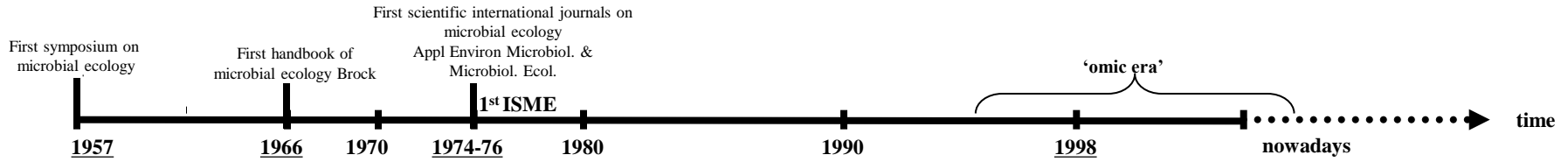
Erosion de la biodiversité du sol = réduction de la production végétale

Mougel et al. INRA Dijon

ALIMENTATION
AGRICULTURE
ENVIRONNEMENT



Comment aborder la diversité microbienne des sols ?

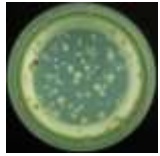


Étude des individus

Etude des populations

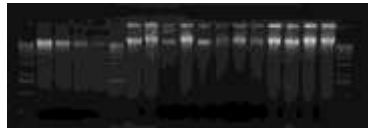
Etude des communautés

Etude des métacommunautés



Développement de milieu de culture

Developpement de la biochimie et biologie moléculaire



Extraction d'acides nucléiques de matrices environnementales (sols, eaux, ...)

Extraction et caractérisation des protéines de matrices environnementales (sols, eaux, ...)

2-D gel electrophoresis

PCR

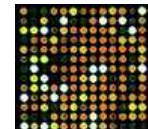
Mass Spectrometry

Bio informatic

Genomic

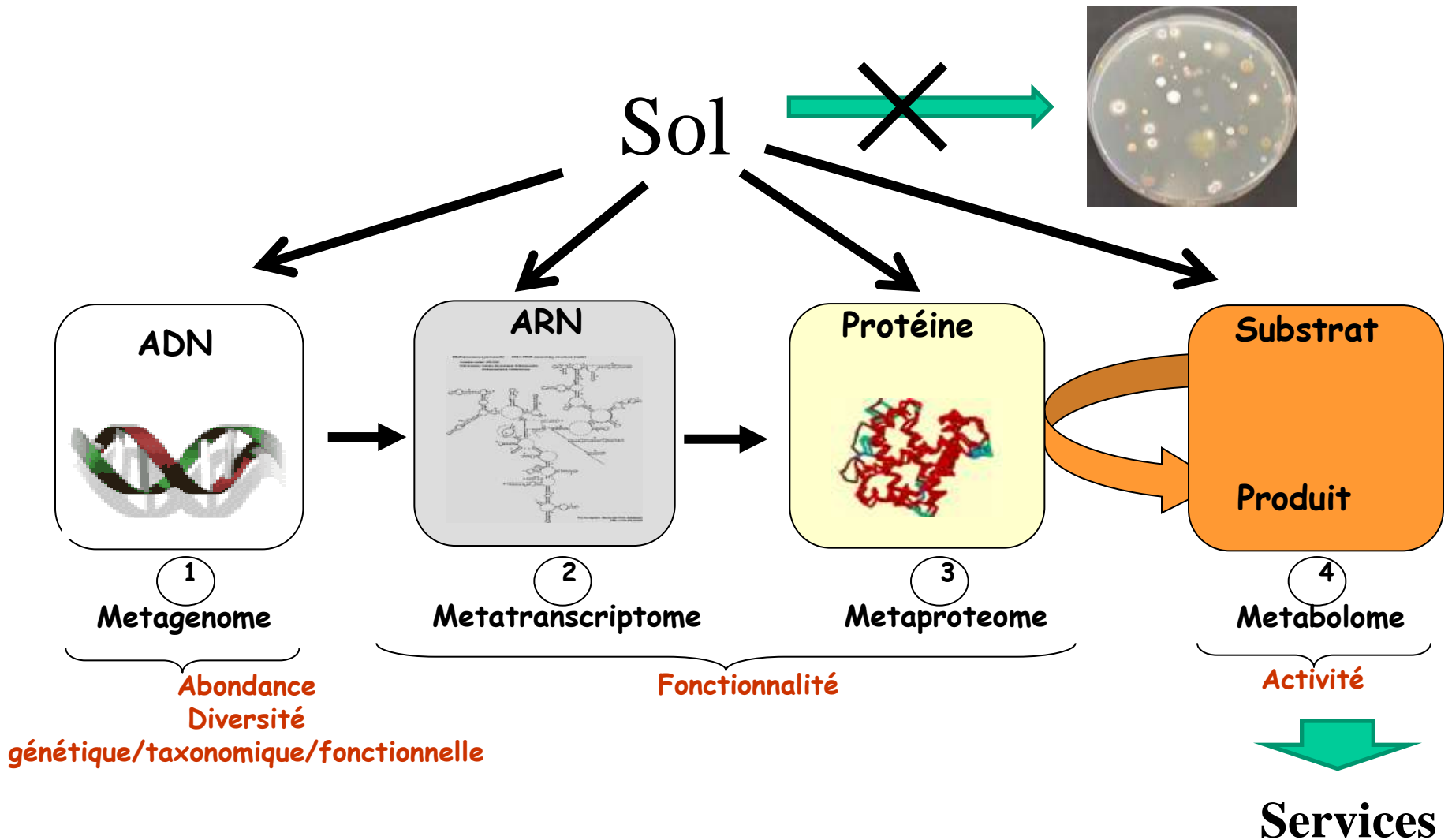
Metagenomic DNA-SIP

Metaproteomic/Metabolomic



(Maron, Ranjard, Mougel, Lemanceau 2007, Mic Ecol)

Une nouvelle voie : l'écologie moléculaire microbienne

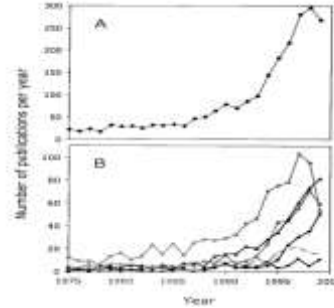


ALIMENTATION
AGRICULTURE
ENVIRONNEMENT



Ecologie moléculaire : un bilan mitigé

- ➔ **Augmentation exponentielle des études sur la biodiversité microbienne des environnements naturels**



Morris et al., 2002

- ➔ **Manque de standardisation des outils (de l'échantillonnage à l'analyse moléculaire)**
- ➔ **Manque de référentiel d'interprétation**
- ➔ **Manque d'intégration des échelles larges (spatiales et temporelles)**



Manque de généricité des résultats

Un outil pour standardiser les outils moléculaires et construire
des référentiels

Plateforme



GenoSol



*Exploring the microbial world
To better protect our environment*

Web Site

http://www.dijon.inra.fr/plateforme_genosol/

ALIMENTATION

AGRICULTURE

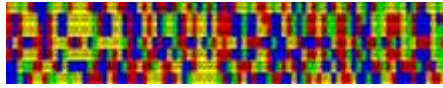
ENVIRONNEMENT



Les missions GenoSol

Conservatoire des ressources génétiques Sol

Stocker et gérer les ADN de sols

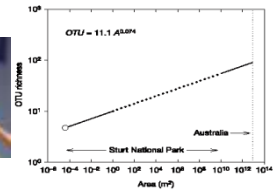
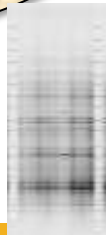
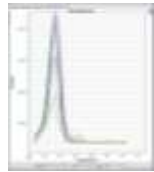


Plateforme Technique

Caractérisation moléculaire (densité, diversité)
des communautés microbiennes des sols

Système d'Information Environnementale

Référentiel sur l'abondance et la diversité
des communautés microbiennes des sols

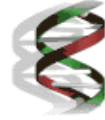


Les outils disponibles

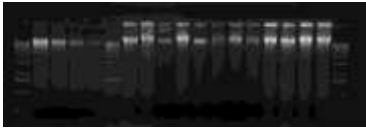
Sol



ADN sol

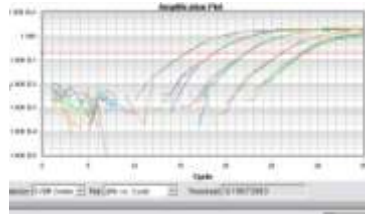


Quantité ADN sol



Biomasse moléculaire microbienne

qPCR 16S/18 rDNA

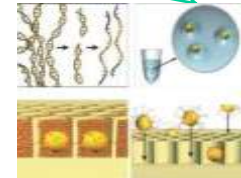
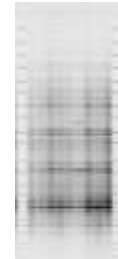


Densité bactérie

Densité champignons

Rapport champ./Bactéries

DNA fingerprint



Inventaire
Taxonomique
Séquençage massif

ARISA

ITM

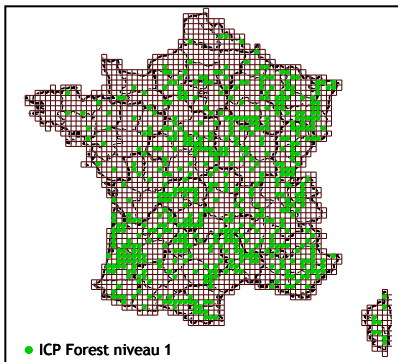
Abondance microbienne

Structure génétique
Indice de diversité

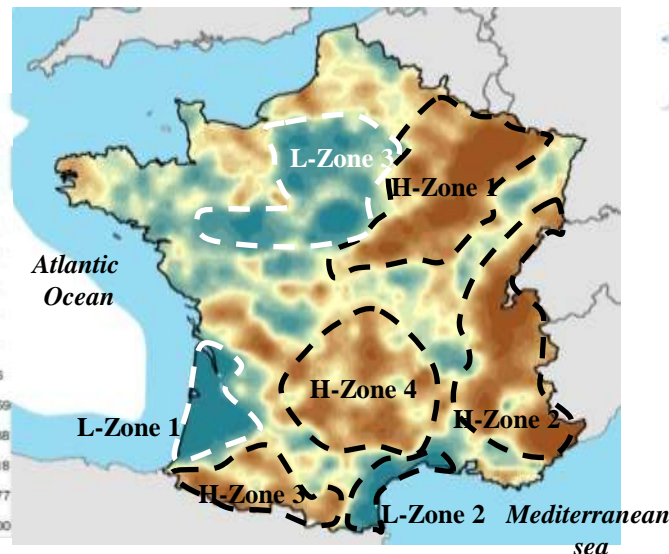
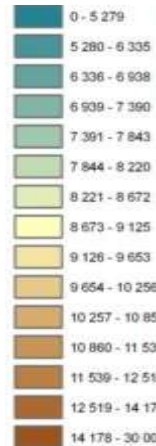
Biomasse Moléculaire Microbienne à l'échelle de la France

RMQS

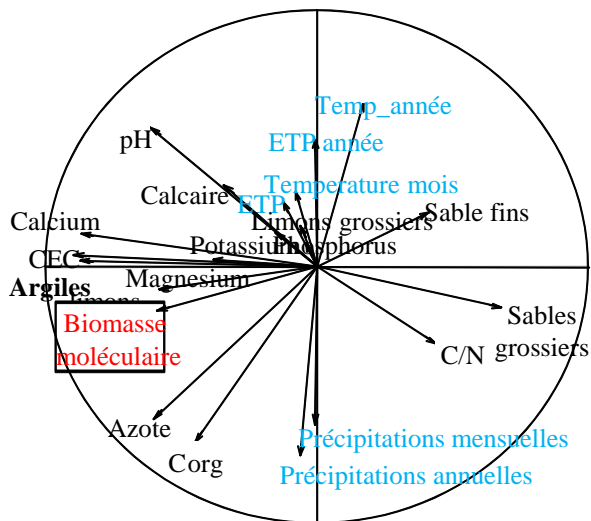
Groupement d'intérêt scientifique



DNA yield
ng.g⁻¹ soil



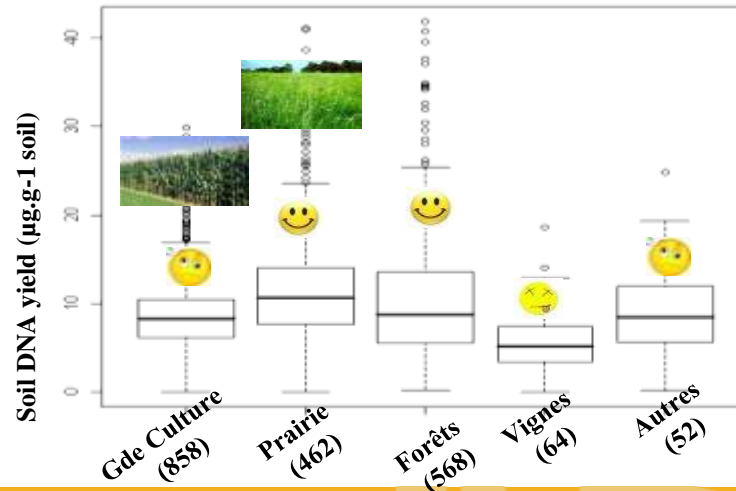
ANR



Importance du type de sol et de son mode d'usage

Texture, CEC > Corg, N, pH, C/N >>> paramètres climatiques

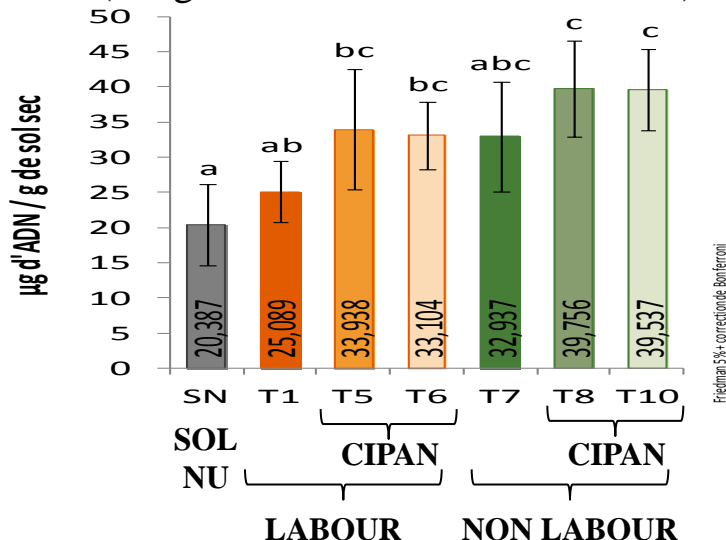
Carte de France de la biomasse moléculaire microbienne



Impact des pratiques agricoles sur la Biomasse Moléculaire Microbienne

Travail du sol

(Boigneville, essai environnement)



➔ Différence significative de biomasse microbienne entre labour et semis direct.

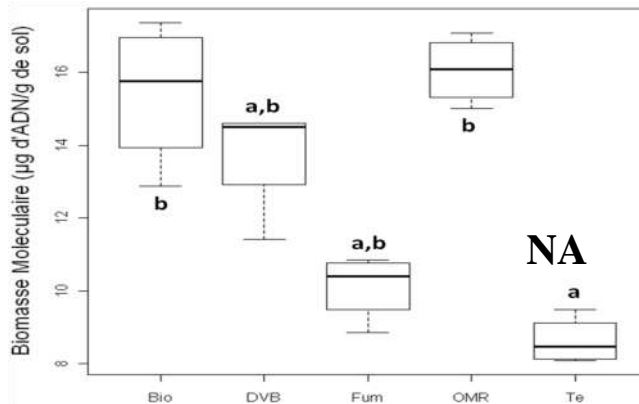
➔ Cipan compense la baisse du labour



Amendements organiques SOERE PRO



Projet ADEME
Bioindicateurs II

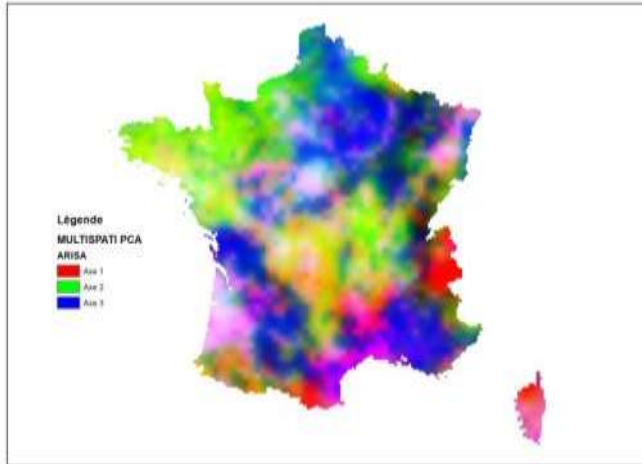
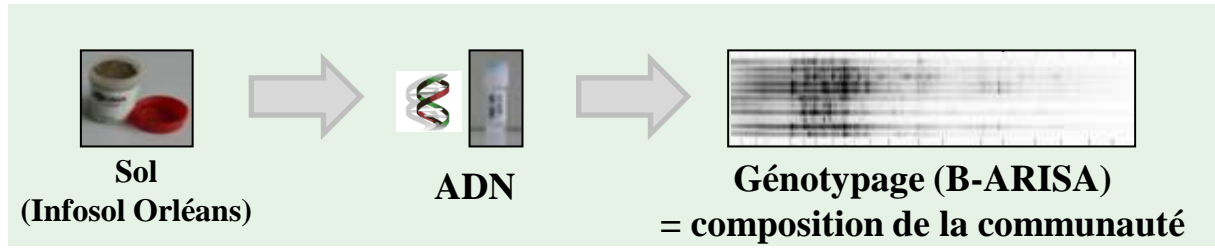
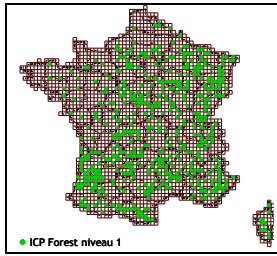


➔ Les amendements organiques stimulent la biomasse microbienne

➔ Tous les types d'amendements n'ont pas la même efficacité

Diversité et structure génétique des communautés bactériennes du sol

Groupement
d'intérêt
scientifique



**Cartographie
de la composition microbienne**

« Tout n'est pas partout »

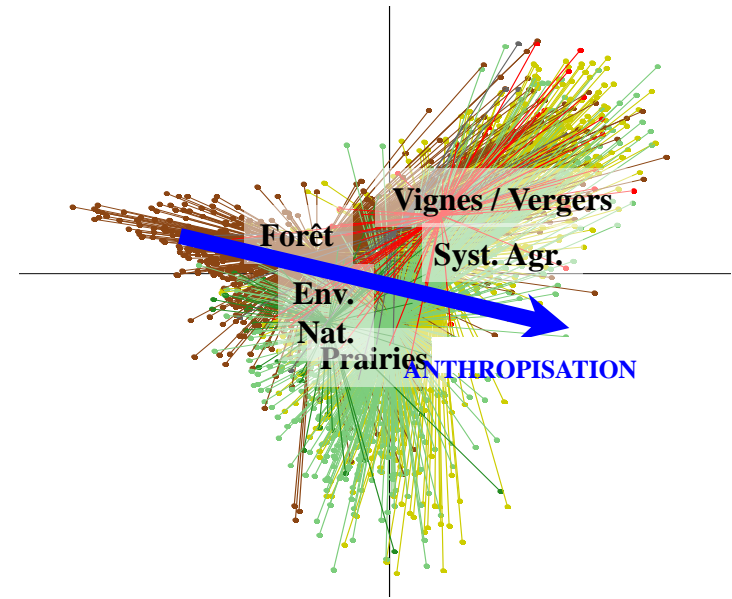
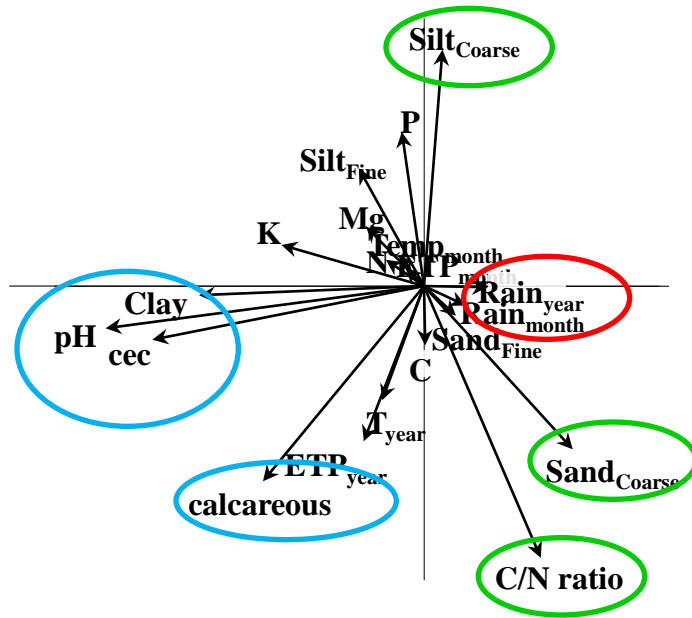


- ✓ Communautés bactériennes structurées spatialement (≈ 140 km de rayon)
- ✓ Régions écologiques de plus ou moins grandes variabilités (« diversification »)
- ✓ Opposition entre régions



Classement des régions selon leur diversité régionale
Sud-Est > Nord > Bretagne > Landes

Influence du mode d'usage des sols sur la diversité microbienne



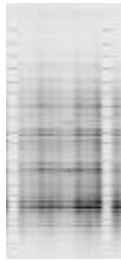
➔ **Importance du type de sol et du mode d'usage des sols**

Paramètres locaux (notamment pH) > paramètres globaux (climat, reliefs,...)



Du génotypage au séquençage haut débit

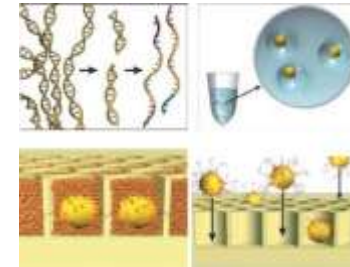
Profil de génotypage



454 GS FLX*

Chemistry	Pyrosequencing
	Standard
Run Time	7 hours
Read Lengths (bp)	250
Ave. Reads per Run	400K
Data per run	100MB
Throughput	100MB
	Titanium
Run Time	10 hours
Read Lengths (bp)	400+
Ave. Reads per Run	1x10 ⁶
Data per run	400MB
Throughput	400MB

*Metrics apply to both Fragment and Mail



PyroSéquençage
haut débit



Structure génétique

Inventaire taxonomique des espèces
(plusieurs 10^{aines} de milliers esp/ sols)



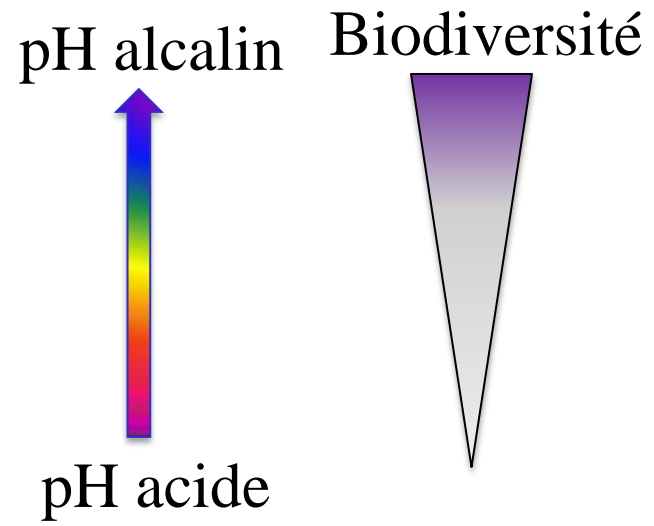
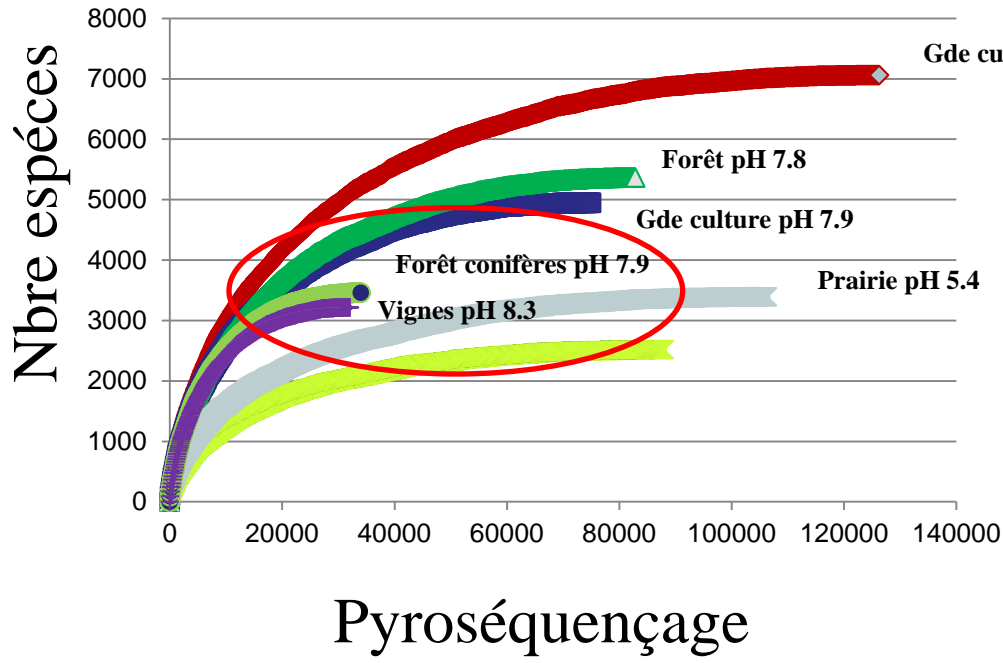
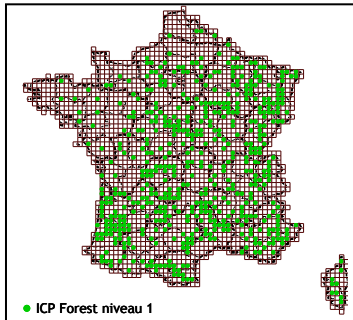
Vraie estimation de la diversité

Identification de populations d'intérêts agro-écologique
(pathogènes, impliqués dans fertilisation...)

Inventaire de diversité microbienne sur les sols du RMQS



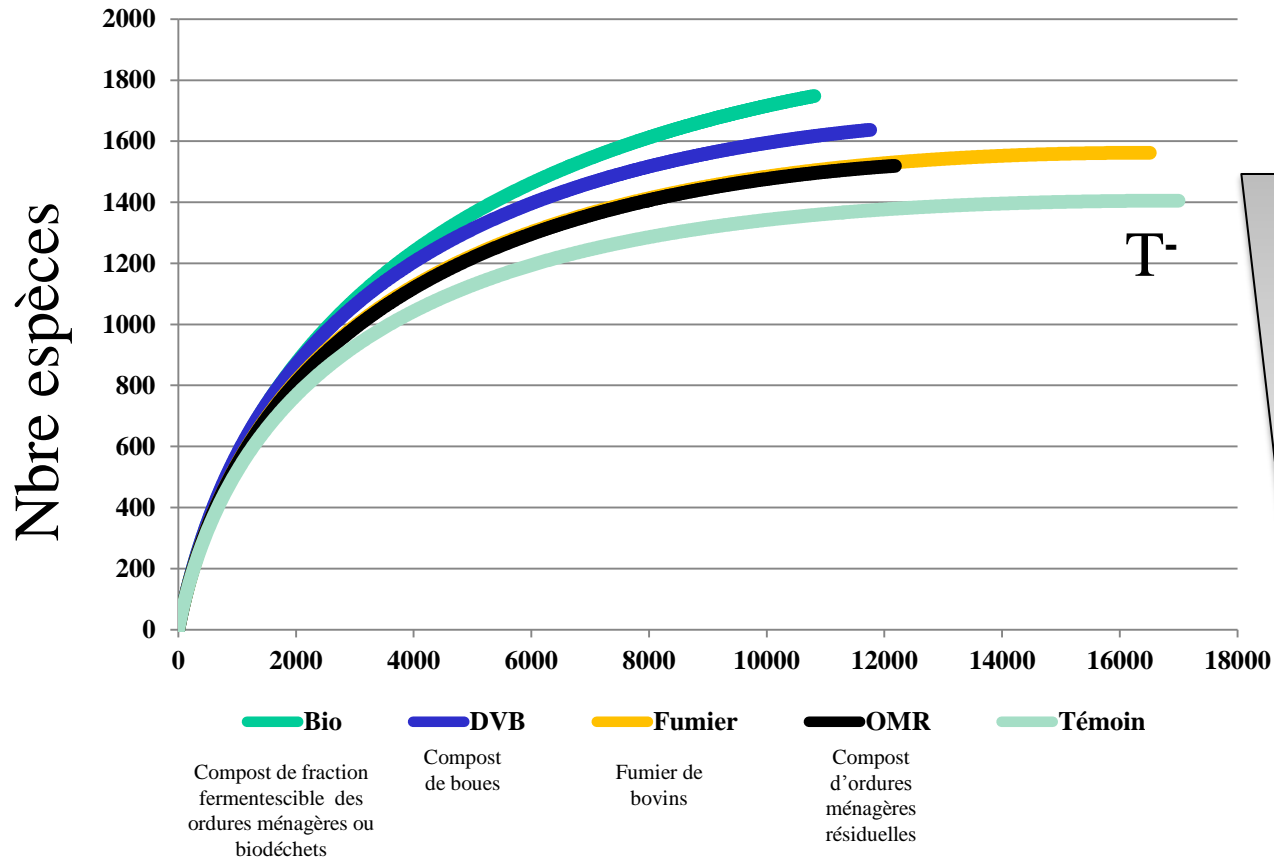
Groupement d'intérêt scientifique



Effets sols + modes d'usage

Impact des pratiques agricoles

Feucherolles, culture avec compost amendé



Projet ADEME

BioII



Et les paysages...

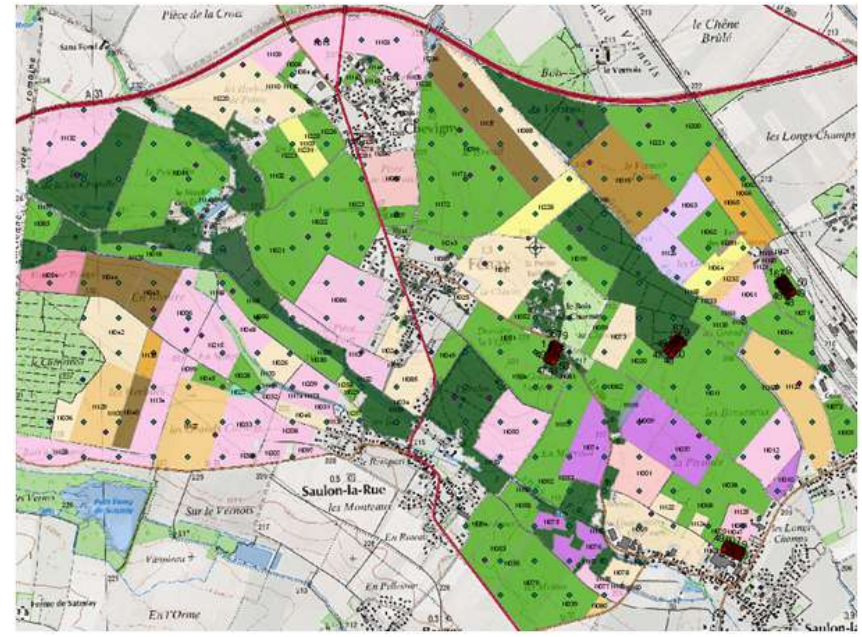
➔ Importance d'évaluer l'impact environnemental des pratiques **dans un paysage**



Indice de qualité du paysage

Lien diversité biologique des sols – diversité du paysage

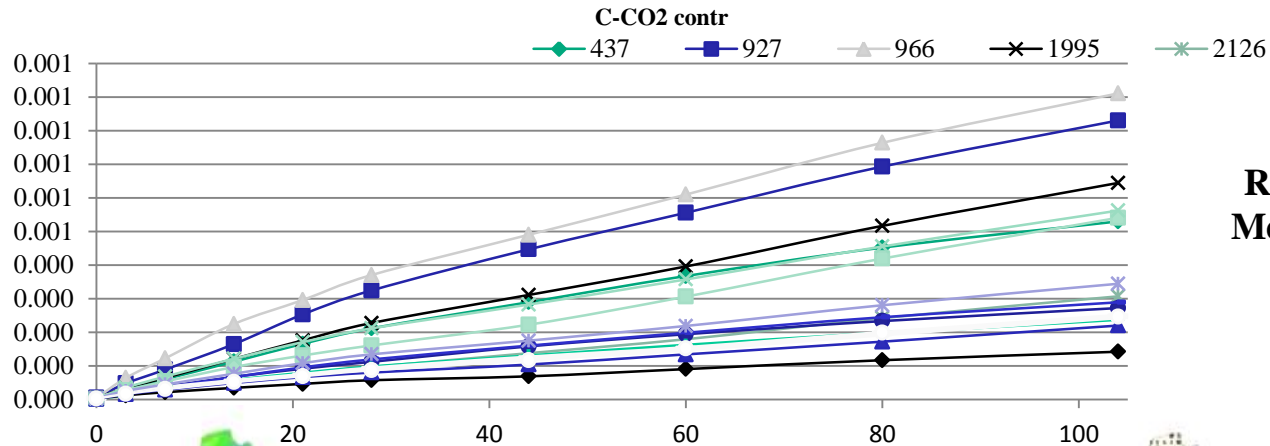
Ex. paysage Fenay (thèse F. Constancias)



Lien diversité microbienne – fonctionnement biologique de sols



DIMIMOS (ANR Systerra 2008-2012, coord PA Maron) : lien diversité microbienne fonctionnement biologique de sols



**Respiration CO₂ sols
Mesure priming-effect**



Traduction
→



La France gagne t'elle de la biodiversité?

La France stocke t'elle du carbone?