

Biomasse Moléculaire Microbienne du sol

Un indicateur d'abondance des microorganismes

Plateforme GenoSol – INRA de Dijon



POURQUOI L'ABONDANCE DES MICROORGANISMES ?

La quantité de **biomasse microbienne** est un facteur déterminant dans la qualité biologique des sols en raison de son rôle dans la **régulation, la transformation et le stockage des nutriments**. Cette quantité de biomasse microbienne est par ailleurs démontrée comme étant un **indicateur sensible, robuste et précoce des perturbations d'un sol** (modifications de pratiques agricoles, contaminations, changement de statut organique, etc... ; Ranjard *et al.*, 2006 ; Chaussod *et al.*, 1996). La mesure de la **Biomasse Moléculaire Microbienne** est une technique permettant d'estimer l'abondance des microorganismes dans le sol **au même titre que la méthode de fumigation/extraction** (Marstorp *et al.*, 2000 ; Blagodatskaya *et al.*, 2003 ; Widmer *et al.*, 2006 ; Bouzaiane *et al.*, 2007). Sa **facilité de mise en œuvre** lui permet d'être appliquée en moyen débit. Pour exemple, cette Biomasse Moléculaire a été mesurée sur les 2 200 sols du Réseau de Mesure de la Qualité du Sol (RMQS) et une cartographie nationale a donc pu être établie ainsi que le premier référentiel d'interprétation associé à cette mesure (Dequiedt *et al.*, 2011). Ces travaux ont permis de confirmer la robustesse et l'intérêt de cet indicateur pour détecter les modifications dues aux changements d'usage des sols.

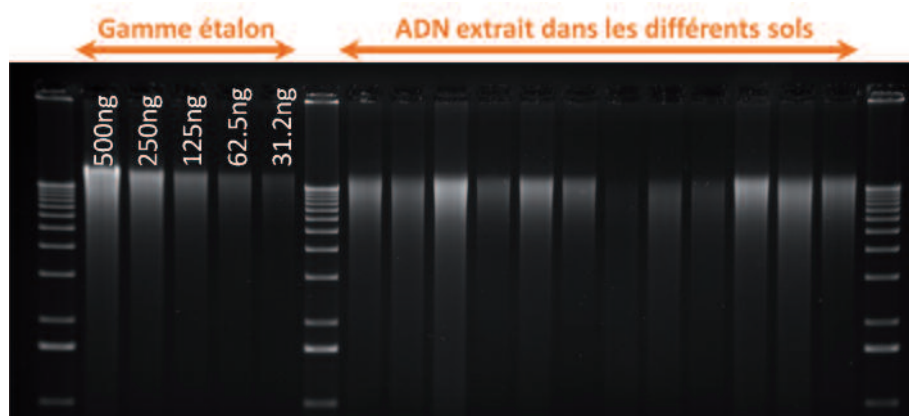
Sur 1 hectare (éq. Carbone)

2 500 kg de bactéries
3 500 kg de champignons microbiens
soit l'équivalent de 6 à 10 vaches

COMMENT SONT RÉALISÉES ET INTERPRÉTÉES LES ANALYSES ?

La mesure de la Biomasse Moléculaire Microbienne **correspond au rendement d'extraction d'ADN du sol**. La technique repose sur la quantification de l'ADN extrait directement à partir de l'échantillon de sol. Les protocoles d'extraction et de quantification développés et standardisés par la plateforme GenoSol (Terrat *et al.*, 2012 ; Plassart *et al.*, 2012) prennent environ **1 journée par échantillon** avec la possibilité de traiter jusqu'à trente échantillons en même temps :

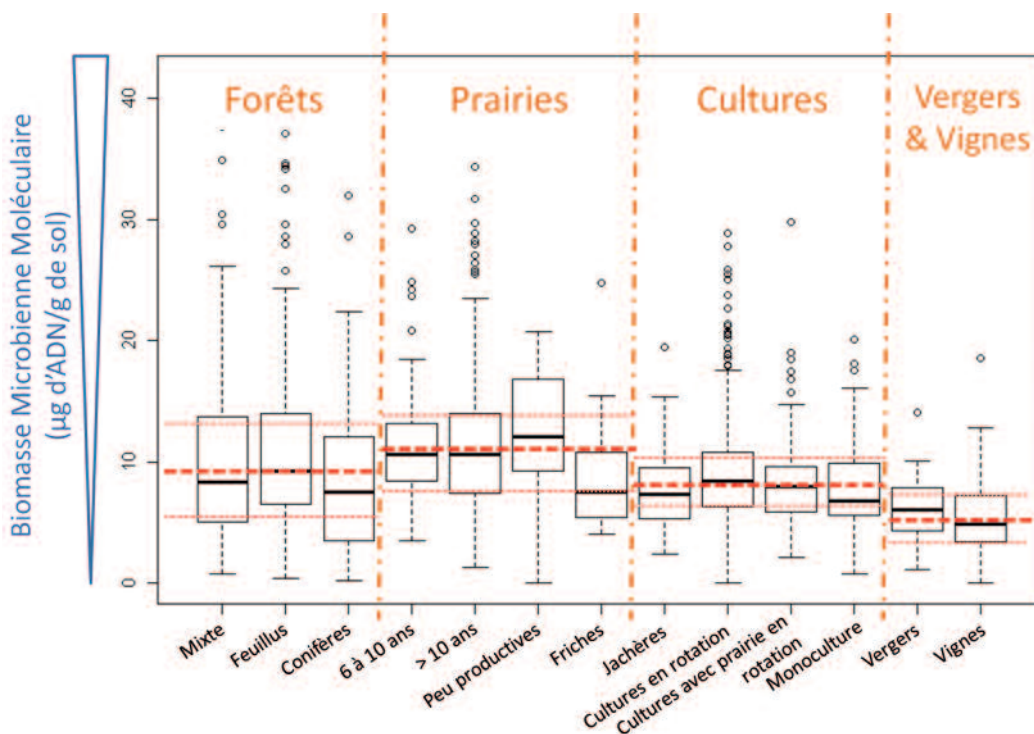
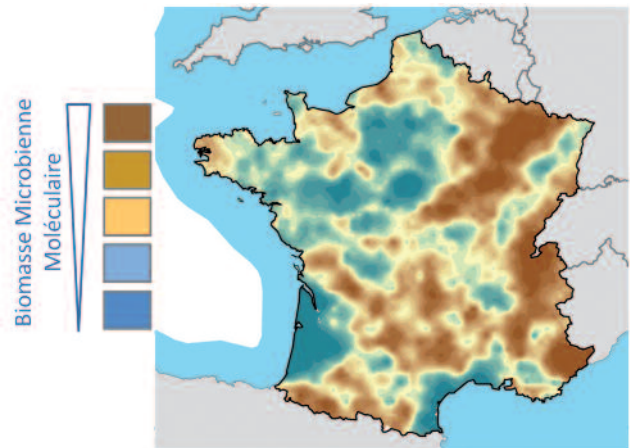
- **Extraction d'ADN** à partir de 1 g de sol sec (protocole **standardisé correspondant à une optimisation du protocole normalisé ISO-TC 90-SC4-WG 4N119**),
- Dépôt et **migration de l'ADN dans un gel d'agarose**,
- **Coloration** de l'ADN dans le gel à l'aide du **Bromure d'ETHidium (BET)**,



Gel d'agarose obtenu après migration, coloration et révélation de l'ADN sous les rayons ultraviolets

- **Révélation** de l'ADN coloré au BET qui fluoresce sous les rayons ultraviolets,
- **Quantification de l'ADN** par comparaison avec une gamme étalon.

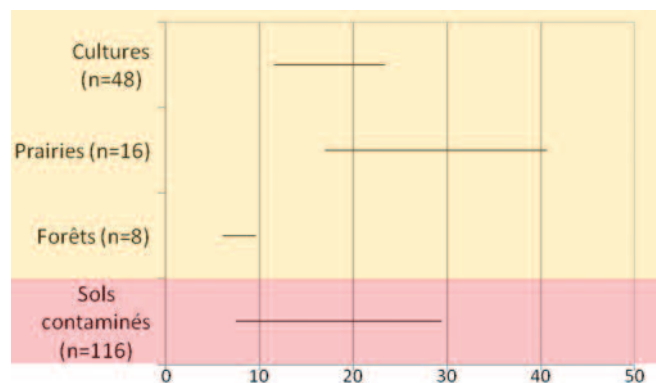
L'interprétation des résultats de l'indicateur se fait par **comparaison des valeurs avec un référent local** (situation témoin) ou par **positionnement dans le référentiel national** (MicroSol database[®]) à l'aide d'outils mathématiques adaptés (comparaison de moyennes, cartographie, arbres de décision, etc...).



Référentiel d'interprétation (MicroSol database[®]) : distribution spatiale de la Biomasse Moléculaire et gamme de variation en fonction du mode d'usage des sols à l'échelle de la France.

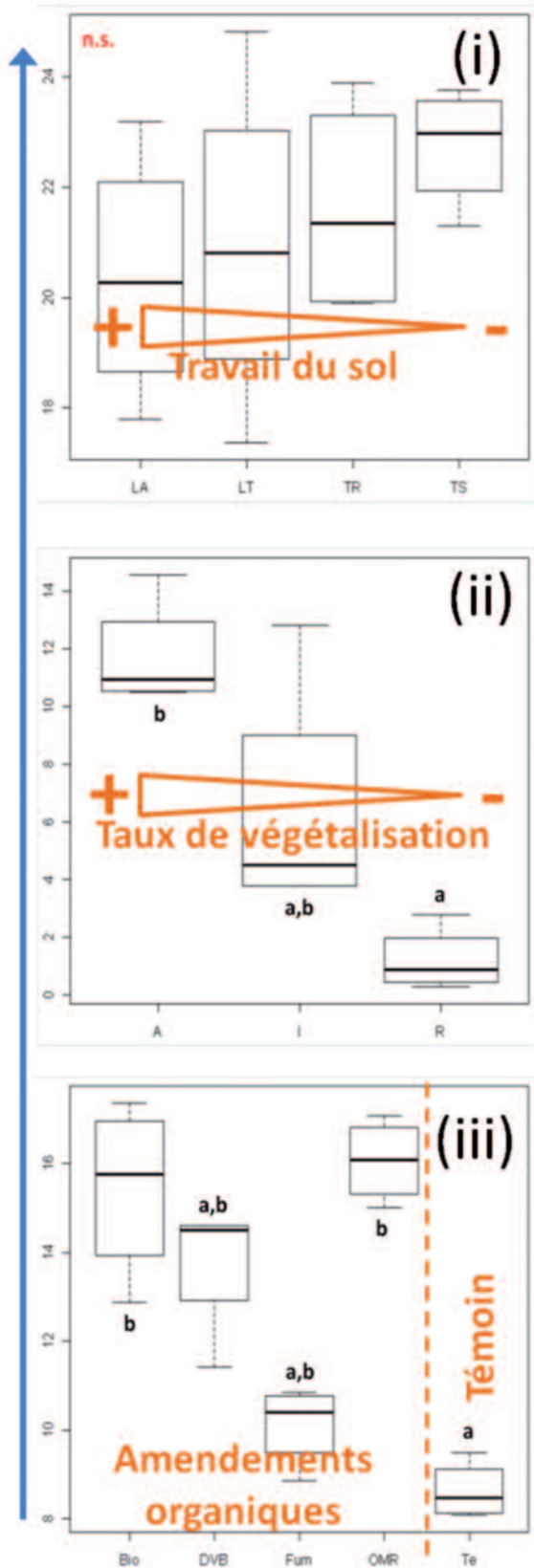
APPLICATION À DES PROBLÉMATIQUES DE TERRAIN

Les études à l'échelle du territoire national (RMQS ; Dequiedt *et al.*, 2011) ont démontré la **prédominance des paramètres locaux** (mode d'occupation des sols, types de sol, pratiques, etc...) par rapport aux paramètres globaux (climat, localisation, géomorphologie, etc...) sur la gamme de **variation de la Biomasse Moléculaire microbienne**.



Biomasse Moléculaire dans le dispositif ADEME Bioll

Biomasse Moléculaire Microbienne



Les résultats obtenus sur des sites du dispositif ADEME Bioll : i) site de Thil, ii) site de Saint-Etienne et iii) site de Qualiagro, démontrent la sensibilité de l'indicateur :

- à l'intensité du travail du sol : la réponse biologique révèle une tendance (non significative) à la **diminution de la Biomasse Moléculaire Microbienne dans les situations où le travail du sol est le plus intensif** (labour) alors qu'un travail du sol superficiel tend à augmenter cette valeur et diminuer l'hétérogénéité entre les répétitions (i),
- au **taux de réhabilitation** d'un sol pollué : les valeurs de biomasse **augmentent** significativement **avec le pourcentage de revégétalisation** de la zone d'étude par les végétaux (ii),
- au **statut organique du sol** : les valeurs sont significativement **plus élevées dans les situations amendées** par rapport à la situation témoin. La sensibilité de l'indicateur permet également de discriminer les différentes situations amendées en fonction de **la qualité biochimique des intrants** organiques apportés et de leur efficacité à stimuler la vie microbienne (iii).



INTÉRÊTS ET LIMITES DE L'INDICATEUR BIOMASSE MOLÉCULAIRE

Intérêt :

- **Forte sensibilité** aux **changements de pratiques, d'itinéraires culturaux** (travail du sol, amendements organiques, etc...),
- **Techniques d'acquisition et d'interprétation standardisées (normalisées), éprouvées et faciles à mettre en œuvre pour un coût faible (de l'ordre de 50 €),**
- **Matériel** utilisé **peu spécifique** (centrifugeuse, pipettes, etc...) ; seul le **broyeur de sol** est spécifique (FastPrep de MPBio),
- **Etape obligatoire**, l'extraction d'ADN est nécessaire avant toutes autres caractérisations moléculaires,
- **Disponibilité d'un référentiel** (MicroSol database[©]) **permettant l'interprétation des résultats obtenus** (RMQS, réseau, sites expérimentaux INRA et ITA, etc...).

Limites :

- **Forte sensibilité au statut organique et au type de sol qui peut masquer d'autres effets** (contamination métallique ou HAP par exemple).



- *Blagodatskaya E.V., Blagodatskii S.A. & Anderson T.H., 2003 - Quantitative isolation of microbial DNA from different types of soils of natural and agricultural ecosystems. Microbiology, 72 : pp 744-749.*
- *Bouzaiane O., Cherif H., Saidi N., Jedidi N. & Hassen A., 2007 - Effects of municipal solid waste compost application on the microbial biomass of cultivated and non-cultivated soil in a semi-arid zone. Water Management Research, 25 : pp 334-342.*
- *Dequiedt S, Saby NPA, Lelievre M, Jolivet C, Thioulouse J, Toutain B, Arrouays D, Bispo A, Lemanceau P, and Ranjard L., 2011 - Biogeographical Patterns of Soil Molecular Microbial Biomass as Influenced by Soil Characteristics and Management. Global Ecology and Biogeography, 20 : pp 641-652.*
- *Marstorp H., Guan X. & Gong P., 2000 - Relationship between dsDNA, chloroformlabile C and ergosterol in soils of different organic matter contents and pH. Soil Biology and Biochemistry, 32 : pp 879-882.*
- *Ranjard L., Echairi A., Nowak V., Lejon D.P.H., Nouaïm R. & Chaussod R., 2006 - Field and microcosm experiments to evaluate the effects of agricultural copper treatment on the density and genetic structure of microbial communities in two different soils. FEMS Microbiology Ecology, 58 : pp 303-315.*
- *Terrat S., Christen R., Dequiedt S., Lelièvre M., Nowak V., Regnier T., Bachar D., Plassart P., Wincker P., Jolivet C., Bispo A., Lemanceau P., Maron P.A., Mougel C., Ranjard L., 2012 - Molecular biomass and MetaTaxogenomic assessment of soil microbial communities as influenced by soil DNA extraction procedure. Microbial Biotechnology, 5 : pp 135-141.*
- *Widmer F., Rasche F., Hartmann M. & Fliessbach A., 2006 - Community structure and substrate utilization of bacteria in soils from organic and conventional farming systems of the DOK long-term field experiment. Applied Soil Ecology, 33 : pp 294-307.*
- *Plassart P., Terrat S., Thomson B., Griffiths R., Dequiedt S., Lelievre M., Regnier T., Nowak V., Bailey M., Lemanceau P., Bispo A., Chabbi A., Maron P.A., Mougel C., Ranjard L., 2012 - Evaluation of the ISO Standard 11063 DNA Extraction Procedure for Assessing Soil Microbial Abundance and Community Structure. PLoS ONE 7(9) : e44279. doi:10.1371/journal.pone.0044279.*

CONTACT

Plateforme GenoSol – INRA de Dijon - 17 rue de Sully - BP 86510 - 21065 Dijon Cedex France
http://www.dijon.inra.fr/plateforme_genosol

RANJARD Lionel (Dir. Scientifique) - Tel : +33 (0) 3 80 69 30 88 - lionel.ranjard@dijon.inra.fr

DEQUIEDT Samuel (Dir. Technique) - Tel : +33 (0) 3 80 69 33 83 - samuel.dequiedt@dijon.inra.fr