

Empreinte Moléculaire des communautés microbiennes du sol

Un indicateur d'impact et de stabilité de la vie microbienne du sol

Plateforme GenoSol – INRA de Dijon



POURQUOI UNE EMPREINTE DES COMMUNAUTÉS MICROBIENNES ?

Les microorganismes du sol sont les organismes les plus diversifiés à l'échelle de la planète. Ils possèdent un temps de génération court, de quelques dizaines de minutes à une journée suivant l'espèce et les conditions environnementales (température, nutriments, etc...). Ceci confère aux communautés microbiennes une forte réactivité aux perturbations du milieu. A ce titre, **l'Empreinte Moléculaire**, qui est une image de la diversité **des communautés microbiennes** du sol, est un indicateur **précoce** (forte réactivité) **et sensible** (forte adaptation des communautés) aux changements opérés sur la vie biologique du sol en réponse à une perturbation anthropique ou naturelle de l'environnement. La technique permet d'aborder les notions de **Résistance/Résilience** des communautés microbiennes des sols.

Résistance/Résilience des communautés microbiennes = l'élastique du sol

De même qu'il faut appliquer une certaine force pour étirer un élastique, les communautés microbiennes du sol peuvent résister à une perturbation suivant son intensité et sa durée : c'est leur capacité de **Résistance**.

Tout comme l'élastique, les communautés microbiennes du sol peuvent également s'éloigner de leur état d'équilibre en réponse à une perturbation et retrouver cet équilibre une fois la perturbation terminée : c'est la **Résilience**. Cependant, tout comme l'élastique peut se briser en tirant dessus de manière répétée ou excessive, à force de contraintes, les communautés microbiennes peuvent s'éloigner définitivement de cet état d'équilibre et perdre leur capacité de résilience.

METHODE DE CARACTÉRISATION DES COMMUNAUTÉS MICROBIENNES : L'ARISA

L'analyse moléculaire de la structure génétique des communautés repose sur une méthode **de génotypage des communautés microbiennes (bactéries et champignons) appelée ARISA** (Automated Ribosomal Intergenic Spacer Analysis).

L'ARISA = le code-barre du sol

Le résultat de l'ARISA se présente sous la forme d'un code-barre qui est représentatif de la structure des communautés microbiennes du sol et donc des populations qui la composent. Chaque bande du code-barre correspond à une population (ou un groupe de populations) dont la présence est plus ou moins importante en fonction de l'intensité de cette bande. Un traitement informatique permet de sortir l'information contenue dans les codes-barres et c'est leur comparaison qui permet d'identifier les modifications opérées sur les organismes microbiens du sol.

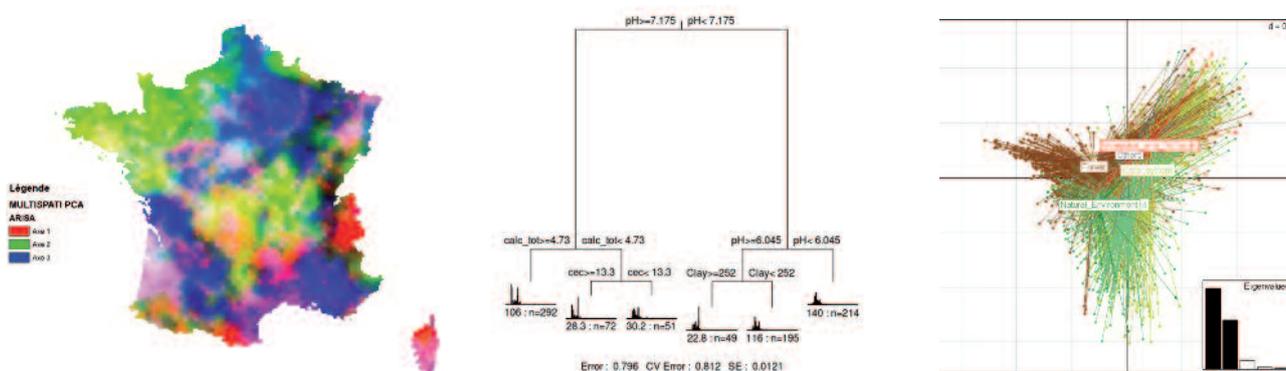


PROTOCOLE DE MESURE ET D'INTERPRETATION DES EMPREINTES MOLECULAIRES GENEREES PAR ARISA



La **procédure d'analyse** est **standardisée et éprouvée au sein de la plateforme GenoSol** et a donné lieu à un grand nombre de publications (ex : Ranjard *et al.*, 2000a, 2000b, 2006 ; Lejon *et al.*, 2007 ; Dequiedt *et al.*, 2009a, 2009b ; Pascault *et al.*, 2010). Elle est réalisée par un technicien spécialisé en biologie moléculaire et s'applique **directement à partir de l'ADN microbien** extrait du sol selon une procédure standardisée. L'analyse s'effectue en moyen débit et nécessite un équipement coûteux : un thermocycleur (~ 8k€) et un séquenceur automatisé de marque Licor® (80 k€). **Une à 2 semaine(s) est(ont) requise(s) pour l'obtention des résultats.**

L'interprétation des résultats se fait *via l'utilisation d'outils mathématiques adaptés* (ACP, co-inertie, calcul de distance ou de similarité, partition de variance, cartographie, etc...). Le **positionnement des résultats obtenus par rapport au référentiel d'interprétation** de la plateforme GenoSol, mais aussi la comparaison des empreintes obtenues entre un témoin et des situations perturbées permettent de faire un **diagnostic de l'impact de différents facteurs** (activité anthropique, caractéristiques pédoclimatiques) **sur la diversité des communautés microbiennes du sol.**



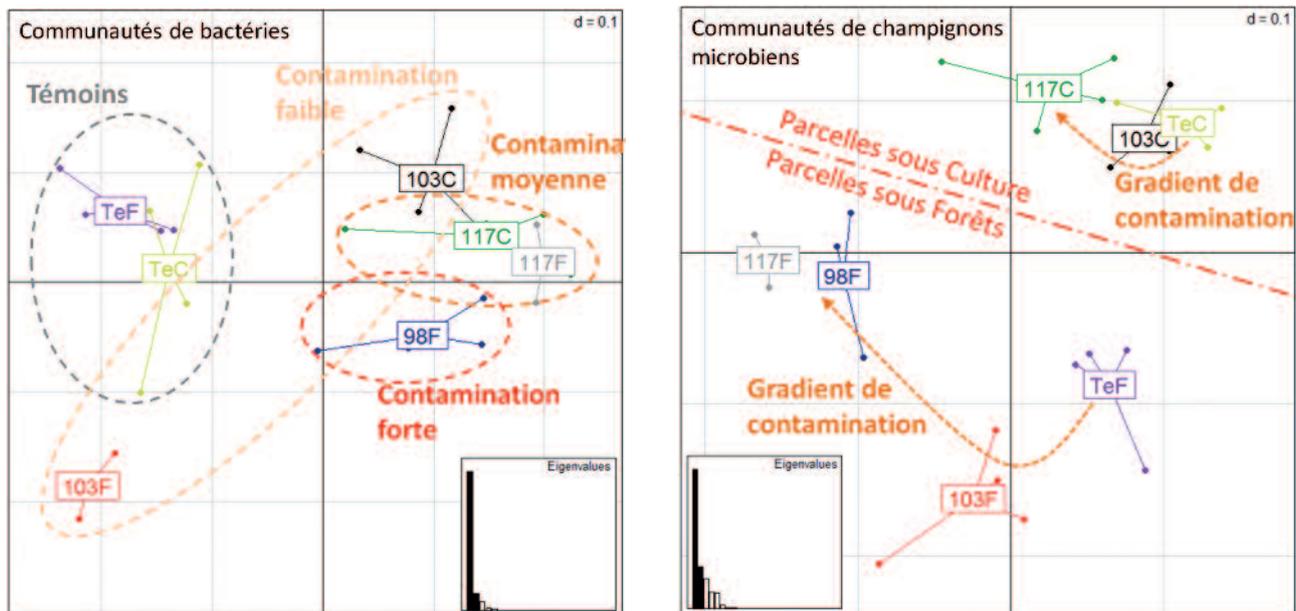
Référentiel d'interprétation (MicroSol database©) : distribution spatiale des Empreintes Moléculaires, arbre de régression et impact du mode d'usage des sols à l'échelle de la France.

UN EXEMPLE D'APPLICATION A UN SITE CONTAMINÉ AUX MÉTAUX LOURDS

[mg.kg ⁻¹ MS]	Témoins	Niveau de contamination		
		faible	moyen	fort
Parcelles sous culture	TeC	103C	117C	-
Parcelles sous forêt	TeF	103F	117F	98F

Le site Metaleurop du dispositif ADEME Bioll est établi sur les parcelles d'une ancienne fonderie dans le nord de la France et présente des niveaux de contaminations polymétal-

liques très élevés voire alarmants. Le site est composé de **7 parcelles sous deux modes d'usages** des sols et 3 niveaux de contamination.



Les plans factoriels de l'analyse en co-inertie des Empreintes Moléculaires des communautés de bactéries et de champignons dans les parcelles du site de Metaleurop montrent **la pertinence des Empreintes Moléculaires comme indicateur** :

- de **l'impact d'une contamination métallique sur la qualité biologique des sols** : les parcelles témoins présentent des communautés différentes des parcelles contaminées,
- de **l'impact du niveau de contamination** : les communautés de champignons et de bactéries sont structurées différemment selon l'intensité de la contamination, elles évoluent graduellement (bactéries) ou par paliers (champignons) selon l'importance de la contamination,
- pour **hiérarchiser les paramètres influençant les communautés** : contamination métallique > mode d'usage des sols pour les bactéries ; mode d'usage des sols > contamination métallique pour les champignons.

INTÉRÊTS ET LIMITES DES INDICATEURS DE STRUCTURES GÉNÉTIQUES DES COMMUNAUTÉS MICROBIENNES DU SOL

Intérêt :

- **Forte sensibilité à tous les types de perturbations** : changements d'itinéraires culturaux, de pratiques culturales (travail du sol, amendements organiques, etc...), contaminations (métalliques, HAP, etc...),
- **Techniques d'acquisition et d'interprétation standardisées**, éprouvées et applicables en moyen débit (environ 1 semaine de procédure analytique) pour un coût abordable (de l'ordre de 100 €),
- Possibilité de **comparaison de différentes modalités pour identifier les situations les plus impactantes** pour la composante microbienne,
- Référentiel d'interprétation (MicroSol database©) établi (pour les bactéries et en cours d'acquisition pour les communautés de champignons) par la plateforme GenoSol permettant **l'interprétation des résultats en regard des gammes de variations observées par type pédoclimatique**.

Limites :

- **Nécessité d'un parc de matériels spécifiques et onéreux**,
- **Effets analysés pouvant être masqués par la variabilité pédologique**.



- Dequiedt S, Lelièvre M, Jolivet C, Saby NPA, Martin M, Thioulouse J, Maron PA, Mougel C, Chemidlin Prévost-Bouré N, Arrouays D, Lemanceau P, Ranjard L., 2009a - *ECOMIC-RMQS : biogéographie microbienne à l'échelle de la France - Etat d'avancement et premiers résultats. Etude et Gestion des Sols*, 16 : pp 219-233.
- Dequiedt S, Thioulouse J, Jolivet C, Saby NPA, Lelievre M, Maron PA, Martin MP, Chemidlin-Prévost-Bouré N, Toutain B, Arrouays D, Lemanceau P, Ranjard L., 2009b - *Biogeographical patterns of soil bacterial communities. Environmental Microbiology Report*, 1 : pp 251-255.
- Lejon D.P.H., Sebastia J., Lamy I., Chaussod R., Ranjard L., 2007 - *Relationships between soil organic status and microbial community density and genetic structure in two agricultural soils submitted to various types of organic management. Microbial Ecology*, 53 : pp 650-663.
- Pascault N., Cécillon L., Mathieu O., Hénault C., Sarr A., Lévêque J., Farcy P., Ranjard L., Maron P.A., 2010 - *In situ dynamics of microbial communities during decomposition of wheat, rape and alfalfa residues. Microb. Ecology*, 60 : pp 816-828.
- Ranjard L., Nazaret S., Gourbiere F., Thioulouse J., Linet P., and Richaume A., 2000a - *A soil microscale study to reveal the heterogeneity of Hg (II) impact on indigenous bacteria by quantification of adapted phenotypes and analysis of community DNA fingerprints. FEMS Microbiol. Ecol.*, 31 : pp 107-115.
- Ranjard L., Poly, F., Combrisson, J., Richaume, A., Gourbiere, F., Thioulouse, J., and Nazaret, S., 2000b - *Heterogeneous cell density and genetic structure of bacterial pools associated with various soil microenvironments as determined by enumeration and DNA fingerprinting approach (risa). Microb. Ecol.*, 39 : pp 263-272.
- 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.

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