

## Diversité Taxonomique Microbienne (pyroséquençage)

Un indicateur d'assurance écologique garant du bon fonctionnement biologique du sol

Plateforme GenoSol – INRA de Dijon

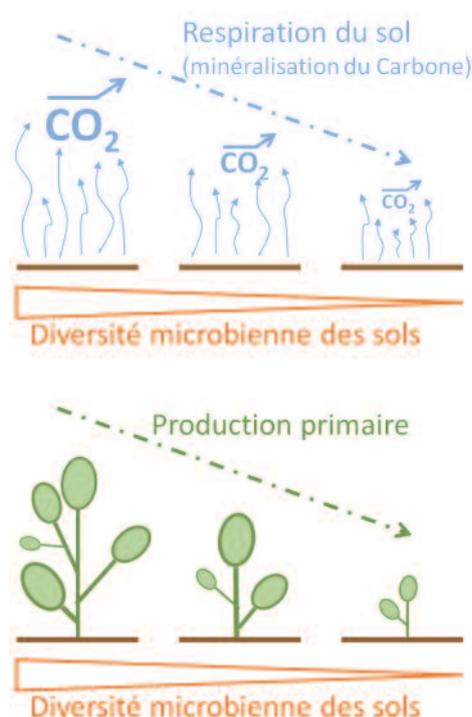


### POURQUOI LA DIVERSITÉ TAXONOMIQUE MICROBIENNE ?

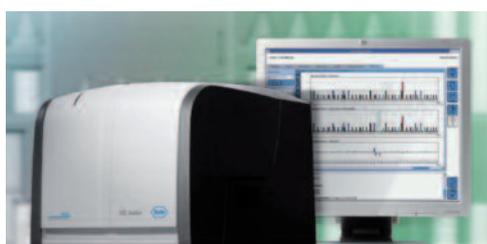
Parmi les organismes du sol, les **microorganismes** sont les **plus nombreux et les plus diversifiés**. Les **activités humaines impactent très fortement la diversité** microbienne du sol. Ainsi, la question de la signification fonctionnelle de ces **modifications/pertes de biodiversité en termes de stabilité et de capacité des sols à maintenir les fonctions et services** nécessaires au développement et bien être des sociétés est aujourd'hui centrale.

C'est dans ce contexte que s'inscrit le concept **d'assurance écologique**. Ce concept prédit que **le risque et l'amplitude de l'impact d'une perturbation sur le fonctionnement** des écosystèmes suite à une perturbation **diminue lorsque le nombre d'espèces est grand** (Yachi et Loreau, 1999). Ainsi, **une plus forte biodiversité est le garant d'un bon et durable fonctionnement biologique du sol**. Pour exemple, les travaux de Maron *et al.* (in prep) et de Mougel *et al.* (in prep) démontrent qu'une diminution de biodiversité microbienne d'un sol engendre une **diminution des capacités de respiration** (minéralisation du carbone) **et de production végétale** (santé et croissance des plantes) et par conséquent, de **sa fertilité biologique**.

**La quantification de la diversité microbienne** est possible grâce à la réalisation **d'inventaires taxonomiques**. Ces inventaires permettent donc de fournir un indicateur du niveau de durabilité et de performance/fonctionnement du sol en termes de fertilité biologique, de productivité végétale, de résistance à des perturbations, de dégradation de produits polluants, etc... Ils permettent également **d'identifier des populations spécifiquement impliquées** dans certains processus biologiques (espèces symbiotiques, pathogènes, dégradants les pesticides, etc...).



### COMMENT SONT RÉALISÉS ET INTERPRÉTÉS LES INVENTAIRES TAXONOMIQUES ?



L'inventaire taxonomique des espèces présentes est réalisé directement à partir de l'ADN extrait du sol. Des **gènes particuliers**, les gènes ribosomiques **présents chez tous les microorganismes, sont ciblés et amplifiés au sein de cet ADN de sol**. Les produits obtenus **sont séquencés** à l'aide d'un séquenceur haut débit de dernière génération (pyroséquenceur Roche© de technologie 454). Ces étapes nécessitent **des équipements et des compétences techniques de pointe**. Le **protocole standardisé** est décrit dans Terrat *et al.* (2012) et coûte quelques centaines d'euros (varie selon la résolution désirée).

Les **données en sortie de séquenceur nécessitent un traitement** et une analyse qui s'appuient sur un environnement de **compétences bio-informatiques, mathématiques** et **d'outils informatiques** conséquents (serveurs de stockage et de calcul). La diversité des microorganismes des sols peut alors être exprimée en termes :

- de **courbes de raréfaction** qui représentent le nombre cumulé d'espèces nouvelles trouvées pour chaque échantillon. Cette représentation permet une comparaison rapide et robuste du niveau de diversité microbienne entre différents échantillons,
- **d'indices** mathématiques de biodiversité permettant de donner une estimation de l'état de la biodiversité et des pressions qu'elle subit,
- **d'inventaires précis d'espèces et de leur abondance relative.**

L'interprétation se fait **par comparaison de différentes modalités** sur un même site ou par le **positionnement des valeurs obtenues dans le référentiel d'interprétation** dédié à la diversité microbienne des sols de la plateforme GenoSol (base de données MicroSol database© en cours de finalisation).

### Les valeurs de richesse et d'équitabilité comme composantes de la diversité

L'**équitabilité** (valeur comprise entre 0 et 1) d'une communauté permet d'évaluer le degré de régularité de la répartition du nombre d'individus par espèce. La valeur est proche de 1 quand il n'y a pas d'espèces dominantes. Au contraire, elle est proche de 0 quand la communauté est dominée par certaines populations. Cet indice est généralement **plus faible dans les environnements perturbés** qui sont dominés par les espèces les plus adaptées.

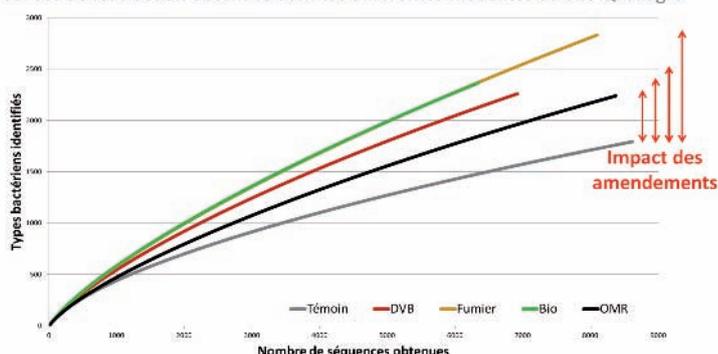
La **richesse** correspond au nombre d'espèces différentes au sein de la communauté. Un grand nombre d'espèces garantit une meilleure assurance écologique. Les indices les plus utilisés sont appelés Chao1 et ACE.

Les **indices de diversité** (Shannon ou Simpsons par exemple) indiquent une valeur numérique synthétique de la richesse, mais aussi de l'équitabilité de la communauté étudiée.

## UN EXEMPLE D'APPLICATION À UNE PROBLÉMATIQUE D'AMENDEMENTS ORGANIQUES

Le site expérimental INRA Qualiagro du dispositif ADEME Bioll a été étudié avec l'objectif d'**évaluer les impacts d'amendements organiques** (différents composts (OMR, DVB, Bio) et du fumier) sur la diversité bactérienne du sol. Les résultats obtenus sur ces parcelles sont comparés avec ceux des parcelles sans apport d'amendement organique (Témoin). Ils montrent que la **diversité bactérienne du sol est fortement impactée par ces amendements**.

Courbes de raréfaction obtenues dans les différentes modalités du site Qualiagro



Les courbes de raréfaction mettent en évidence **une augmentation systématique du nombre d'espèces quel que soit l'amendement**.

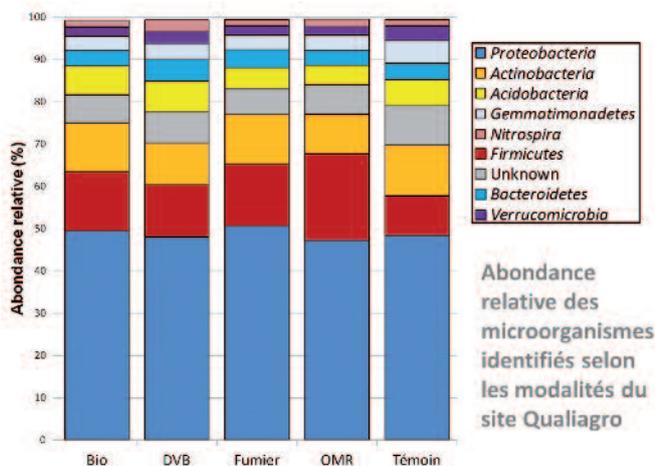
Toutefois, l'amplitude de l'augmentation de richesse microbienne **est variable en fonction du type d'amendement organique** : Bio = Fumier > DVB > OMR > Témoin. **Les apports organiques assurent donc une amélioration de la diversité microbienne** mais le type d'amendement est à adapter au type de sol et au type de système de culture pour assurer la meilleure fertilité biologique.

| Modalités | Nb de types détectés (Richesse) | RICHESSSE |       | DIVERSITÉ |              |
|-----------|---------------------------------|-----------|-------|-----------|--------------|
|           |                                 | Chao1     | ACE   | Shannon   | Équitabilité |
| Bio       | 2365                            | 6935      | 8339  | 6,72      | 0,86         |
| DVB       | 2260                            | 6043      | 6989  | 6,51      | 0,84         |
| Fumier    | 2832                            | 8815      | 10147 | 6,76      | 0,85         |
| OMR       | 2239                            | 6071      | 6870  | 6,03      | 0,78         |
| Témoin    | 1794                            | 4381      | 4657  | 6,05      | 0,81         |

Ceci est confirmé par les indices calculés pour chaque modalité sur ces mêmes communautés. Ainsi, les amendements Fumier et Bio augmentent fortement la diversité et l'équitabilité des différentes espèces bactériennes.

L'apport OMR, quant à lui, augmente la richesse (2 239 types détectés contre 1 794 pour le

Témoin), mais l'indice de Shannon reste inchangé et l'équitabilité diminue. Cela met en évidence que **seuls certains types de microorganismes sont influencés par l'apport OMR**, ils deviennent majoritaires et déséquilibrent potentiellement l'écosystème.



Ce déséquilibre est aussi mis en évidence par l'étude approfondie des types bactériens identifiés. Ainsi, l'apport OMR augmente significativement les populations de *Firmicutes* (en rouge), par rapport aux autres modalités et aux autres populations identifiées. De plus, il n'a pas été mis en évidence d'organismes pathogènes quel que soit l'amendement effectué.

Dans un contexte d'assurance écologique, une plus grande diversité d'espèces microbiennes conduit à une meilleure stabilité du fonctionnement biologique du sol, les apports dits Bio et Fumier sont donc considérés comme les plus efficaces des amendements testés en se basant sur les données obtenues de la diversité des microorganismes des sols.

## INTÉRÊTS ET LIMITES DE L'INDICATEUR BIOMASSE MOLÉCULAIRE

### Intérêt :

- **Véritable inventaire des populations microbiennes** qui permettra à terme d'identifier les espèces responsables des fonctions clés garantes du fonctionnement du sol mais aussi de mettre le doigt sur la présence d'organismes d'intérêts (symbiotes) ou de pathogènes,
- **Approche récente et en perpétuelle évolution** (meilleure résolution, rapidité, coût),
- **Ratio coût/information** : un coût de quelques centaines d'euros pour une caractérisation hautement plus précise et informative que tous les autres indicateurs microbiens.

### Limites :

- **Matériel et environnement d'analyse de pointe** très onéreux (par exemple pour le séquenceur Roche® : de 100 k€ à 1M€ suivant le débit),
- **Savoir-faire et compétences sur des techniques de pointe en biologie moléculaire,**
- **Référentiel en cours de finalisation.**



## BIBLIOGRAPHIE

- 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.
- Yachi S, Loreau M., 1999 – Biodiversity and ecosystem productivity in a fluctuating environment : The insurance hypothesis. *PNAS*, 96-4 : pp 1463-1468.

## CONTACTS

Plateforme GenoSol – INRA de Dijon  
17 rue de Sully - BP 86510  
21065 Dijon Cedex France  
[http://www.dijon.inra.fr/plateforme\\_genosol](http://www.dijon.inra.fr/plateforme_genosol)

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

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