

Biomasse moléculaire fongique estimée par la quantification de l'ergostérol

Marc LEGRAS, Esitpa / Unité Agri'Terr / Equipe BioSol
Contact : mlegras@esitpa.org

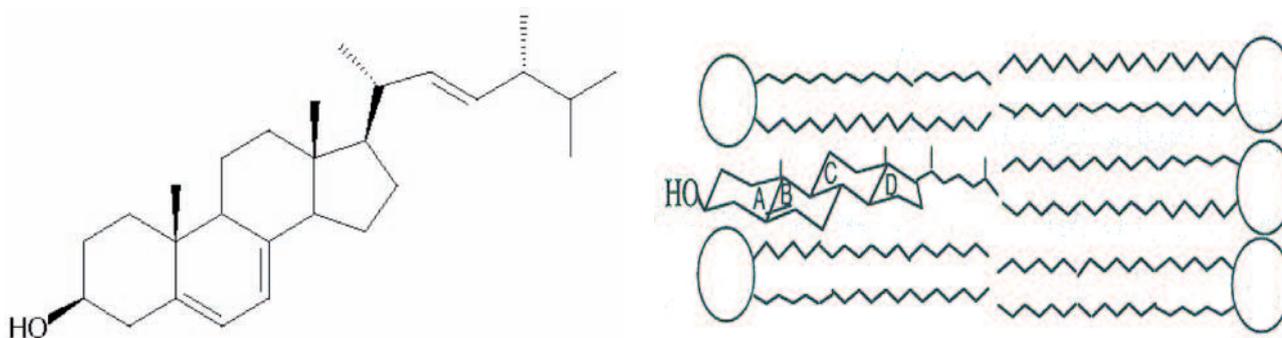


DESCRIPTION DE L'INDICATEUR

Nom de l'indicateur : Biomasse moléculaire fongique estimée par quantification de l'ergostérol extrait du sol.

Rôle écologique de l'organisme testé : Les champignons dominent en nombre et en masse dans la plupart des écosystèmes du sol. Ils prélèvent le carbone nécessaire à leur métabolisme par symbiose ou par **absorption** dans leur environnement. Leur croissance filamenteuse leur permet de constituer de vastes réseaux au sein des sols et de transporter ainsi les composés carbonés, les nutriments et l'information sur de longues distances. Ils sont habituellement subdivisés en trois groupes selon leur mode de nutrition : les **champignons saprophytes** (décomposeurs de matière organique), les symbiotes (commensales ou mutualistes) et les parasites. Le cortège enzymatique spécifique des champignons (laccases, lignine peroxydases, cellulases,...) en font les **décomposeurs majoritaires de la matière organique présente dans les sols** dont certains polluants organiques. Les produits de dégradation sont minéralisés, i.e. biodisponibles pour la nutrition des plantes ou transformés en composés humiques.

Présente principalement dans les membranes (cytoplasme également) la molécule d'ergostérol joue un rôle essentiel pour les cellules fongiques. C'est la molécule cible de bon nombre d'antifongiques.



Structure de l'ergostérol (ergosta-5,7,22-trien-3 β -ol) ; sa taille relative versus les phospholipides et leur disposition dans une membrane.

Il existe deux types d'ergostérol, l'ergostérol libre présent dans la membrane fongique et l'ergostérol lié présent dans le cytoplasme. En fonction du type d'extraction, la quantification de l'ergostérol total est possible.

Type d'indicateur : Biomarqueur d'effet et d'exposition. La biomasse moléculaire fongique varie selon différents types d'influence :

- Les impacts anthropiques liés au travail du sol ou à la présence de polluants qui engendrent une réponse de la biomasse fongique totale.
- Le type et l'âge du peuplement végétal qui agit qualitativement et quantitativement sur les champignons.

DESCRIPTION DES MÉTHODES

Normes et/ou protocoles de référence

Aucune norme ni protocole de référence ne sont disponibles aujourd'hui pour ce marqueur dans le sol. Cependant, considéré comme bon marqueur d'une présence fongique, sa quantification est normalisée en alimentation animale (NF V18-112).

Plan et méthode d'échantillonnage

En matière d'échantillonnage dans le sol, la norme NF X31-100 fait référence. L'horizon 0-15cm est habituellement utilisé. En sol agricole limoneux l'indicateur est sensible jusqu'à 30cm. La stratégie d'échantillonnage et la représentativité de l'échantillon dépendent de la question agronomique et/ou environnementale posée et de l'échelle de travail. Toutefois, un minimum de 30g de sol est nécessaire à l'extraction.

Stockage et pré-traitement des échantillons

Le stockage est déconseillé, l'idéal étant de travailler sur sol frais. A minima effectuer l'extraction si une congélation est nécessaire.

Description simplifiée des méthodes de mesure

L'ergostérol libre est obtenu par simple percolation dans un solvant polaire. La lyse des cellules est assurée par perturbation physique (abrasion par débris de verre de l'ordre du micron). L'extraction pour quantifier l'ergostérol total met en jeu une réaction de saponification assistée par micro-ondes ; plus agressive, nous admettons obtenir la totalité de l'ergostérol présent dans l'échantillon. Les extraits sont ensuite séparés et détectés par HPLC/DAD puis quantifiés.

Estimation du temps

Six heures sont nécessaires par série de 36 échantillons depuis la réalisation des extraits jusqu'à l'analyse des résultats d'analyse

Paramètres mesurés

Les biomasses moléculaires fongiques mesurées sont exprimés en µg d'ergostérol par g de sol sec. La mesure de l'humidité de l'échantillon à la pesée est indispensable.

- Ergostérol libre : Marqueur reflétant la biomasse fongique en cours de dégradation.
- Ergostérol lié : Marqueur reflétant la biomasse fongique viable.
- Ergostérol : Marqueur du potentiel mycorrhizogène du sol.

INTERPRETATION DES RESULTATS

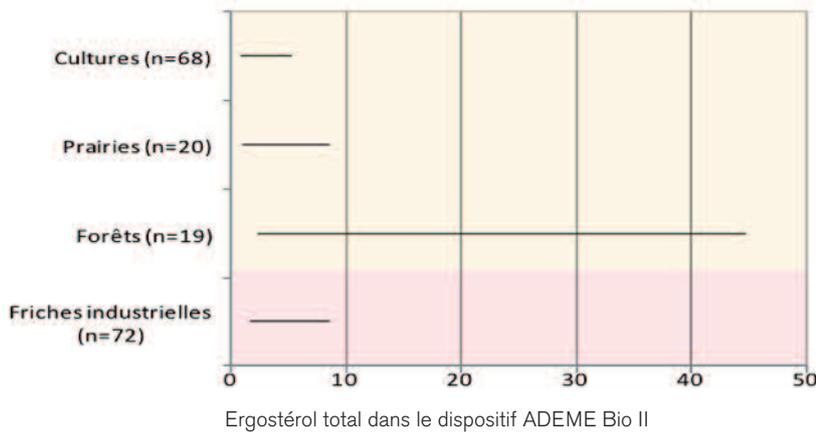
Nécessité d'un référentiel global, faisant appel à une base de données

le programme BIO 2 constitue le premier référentiel sur cet indicateur. La base du laboratoire BioSol capitalise les données de cet indicateur notamment sur les sols haut-normands.

Informations complémentaires nécessaires

Les conditions climatiques et saisonnières ont une influence prépondérante sur ce biomarqueur. Il est préférable de réaliser les prélèvements au printemps à distance d'une période de gel ou à l'automne à distance d'une période de sécheresse.

Le contexte physicochimique est à prendre en compte notamment la teneur en matière organique, le pH, la texture du sol. L'utilisation et l'occupation du sol ainsi que le type de travail du sol pour les parcelles agricoles et/ou le chargement pour les prairies peuvent avoir une forte influence.



Les études à l'échelle du référentiel BioSol (GESSOL I et II ; ADEME BIO I et II) ont démontré la prédominance des **paramètres locaux** (mode d'utilisation des sols, couverture des sols, types de sol, pratiques,...) par rapport aux paramètres plus globaux (localisation, climat,...) sur la gamme de variation de la Biomasse Moléculaire Fongique

EXEMPLE D'APPLICATION

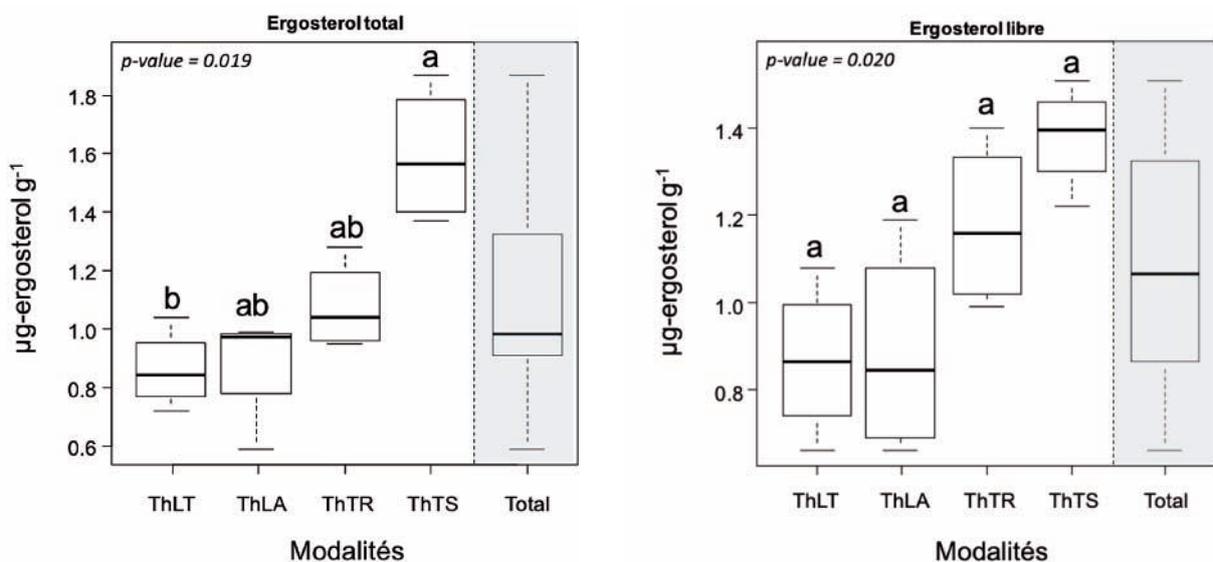
Site de Thil : 4 modalités de travail du sol.

L'objectif du site expérimental de Thil est de comparer l'effet de 4 techniques de travail du sol en Agriculture Biologique. Mis en place en 2005, les labours se caractérisent par un retournement de la couche de sol travaillée : ThLT (Labour Traditionnel 30cm), ThLA (Labour Agronomique 18cm), le travail du sol réduit à l'inverse se traduit par un non-retournement : ThTR (Travail du sol réduit 15 cm avec un outil à dent), ThTS (Travail superficiel à 7cm avec un outil à dent).

Sur le site de Thil, les différences significatives s'observent en fonction de l'intensité du travail du sol. Les quantités faibles sont mesurées dans la parcelle subissant un labour traditionnel. Le labour agronomique et le travail réduit présentent des situations intermédiaires; le travail superficiel offre les quantités d'ergostérol les plus importantes.

Logiquement, moins les sols sont travaillés plus les communautés fongiques sont abondantes sur l'horizon étudié.

Cependant le marqueur « ergostérol libre » ne permet pas de distinguer l'intensité du travail du sol même si une tendance est observée. D'où l'importance du choix du marqueur et de sa sensibilité. En effet, ce marqueur répond préférentiellement à un **stress immédiat** et à une dégradation des cellules fongiques. Les quantités de biomasse fongique estimées par « l'ergostérol total » sont représentatives ici de la conduite du travail du sol, elles peuvent refléter ainsi le comportement de la **communauté fongique** sur un plus long terme.



Biomasse fongique mesurée par l'ergostérol total et l'ergostérol libre sur le site de Thil. Des lettres distinctes indiquent une différence significative au seuil $p < 0,05$.

INTÉRÊTS ET LIMITES DE L'INDICATEUR

Les points forts :

Le marqueur « ergostérol » intègre **tous les facteurs** modulant la biomasse fongique des sols, il apporte des informations sur la **dynamique des communautés** fongiques. Enfin il peut permettre de **qualifier l'effet** de pratiques agricoles, de polluants organiques ou métalliques (tout étant égal par ailleurs).

Limites de l'outil :

Il n'existe pas de **référentiel** sur la biomasse fongique dans les sols estimée par cet indicateur au niveau international. L'évolution de la biomasse fongique est en général **multifactorielle**.

La quantité d'ergostérol diffère selon les espèces fongiques.



Unité Agri'Terr, équipe BioSol a comme objectif (1) la compréhension des déterminismes de la structure des communautés bactériennes et fongiques, (2) les relations entre structure des communautés et l'expression des fonctions *in situ*, et (3) les stratégies adaptatives des communautés sous différentes contraintes anthropiques. Les finalités de ces travaux contribuent à l'innovation dans les domaines de l'agriculture et de l'environnement

CONTACT

<http://www.esitpa.org/recherche/igattin@esitpa.org>