

Biomasse moléculaire fongique estimée par la quantification des ADNr18S

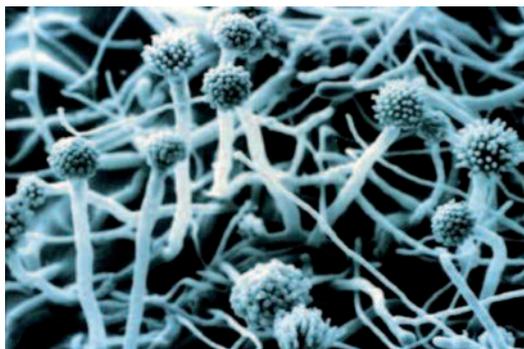
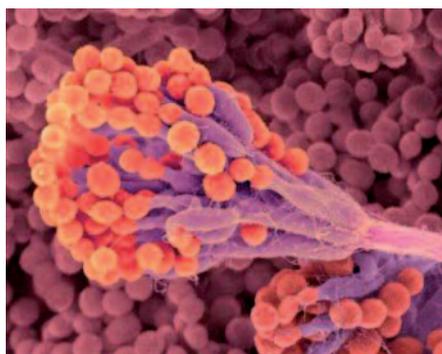
Christophe Gangneux, Esitpa / Unité Agri'Terr / Equipe BioSol
Contact : cgangneux@esitpa.fr



DESCRIPTION DE L'INDICATEUR

Nom de l'indicateur : Biomasse moléculaire fongique estimée par quantification des ADN ribosomiaux spécifiques des champignons.

Rôle écologique de l'organisme testé : Les champignons comprennent l'ensemble des Thallophytes hétérotrophes eucaryotes. Ils 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.

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 diminution de la biomasse fongique totale.
- Le type et l'âge du peuplement végétal qui agit qualitativement et quantitativement sur les fonges.

DESCRIPTION DE LA MÉTHODE

Normes et/ou protocoles de référence

Aucune norme ni protocole de référence ne sont disponibles aujourd'hui pour ce biomarqueur. Le protocole a été publié dans *Soil Biology & Biochemistry* (Gangneux *et al.*, 2011).

■ **Plan et méthode d'échantillonnage :** En fonction de la question posée et de l'échelle de travail (parcelle, paysage, territoire,...), le plan d'échantillonnage est amené à être adapté. De façon générale, l'échantillonnage consiste en un prélèvement d'environ 1,5 kg de sol à la tarière sur l'horizon de surface. Ces échantillons doivent être traités le plus rapidement possible mais peuvent exceptionnellement être conservés pendant 2 jours maximum entre 4°C et 10°C avant traitement.

■ **Stockage et pré-traitement des échantillons :** Les échantillons de sol (environ 1,5kg) sont tamisés/homogénéisés à 2 mm. L'extraction de l'ADN microbien total est réalisée immédiatement. Les ADN extraits peuvent être conservés à -20°C pendant des dizaines d'années.

Les échantillons d'ADN stockés sont dilués à 2 ng/μl avant analyse par PCR en temps réel.

■ **Description simplifiée de la méthode de mesure :** La quantité d'ADN fongique est estimée par PCR en temps réel en utilisant un couple d'amorces universelles spécifiques des Fungi selon Gangneux *et al.* (2011). Une série de dilutions contenant des quantités connues d'ADN génomique de *Fusarium graminearum* est utilisée comme standard pour la quantification des échantillons d'ADN.

■ **Estimation du temps :** Huit heures sont nécessaires par série de 45 échantillons depuis la réalisation des dilutions jusqu'à l'analyse des résultats.

■ **Paramètres mesurés :** Les biomasses moléculaires fongiques mesurées sont exprimées en μg d'ADN fongique par g de sol sec.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

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

Les publications scientifiques faisant état de quantification de biomasse moléculaire fongique par PCR en temps réel se multiplient mais restent rares. Il n'existe aucun référentiel *sensu stricto* pour cet indicateur aujourd'hui mais des valeurs seuil, des ordres de grandeur sont disponibles dans ces publications, principalement pour des parcelles cultivées ou forestières.

■ **Disponibilité/accès à la base de données**

Il n'existe pas de base de données pour ce biomarqueur.

■ **Informations complémentaires nécessaires (ex : climat, usage, type de sol..) :**

Le contexte pédologique exerce une forte influence sur la biomasse fongique et notamment la teneur en matière organique, le pH, la texture du sol, le type de végétation en place, ainsi que le type de travail du sol ou les amendements organiques pour les parcelles agricoles. Les conditions climatiques et saisonnières ont également une influence prépondérante sur le biomarqueur. En résumé, il est préférable de réaliser les prélèvements au printemps à distance (≥ 6mois) d'une période de gel et d'un travail du sol, même superficiel, ou d'un apport de matière organiques.

EXEMPLE D'APPLICATION

Site Metaleurop : Usage des sols.

Le site Metaleurop présente deux types d'usage des sols : 3 parcelles cultivées et 4 parcelles forestières. De plus, ces parcelles, situées à proximité du site d'exploitation d'une ancienne fonderie de plomb, présentent des gradients de contamination par des éléments-trace métalliques (ETM) comme l'illustre la figure ci-après :



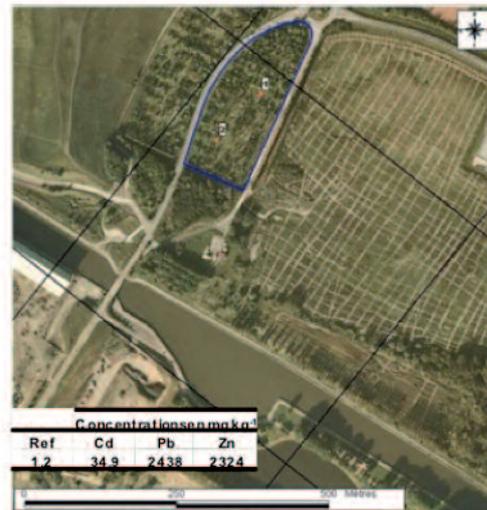
TéC & TéF



103C & 103F

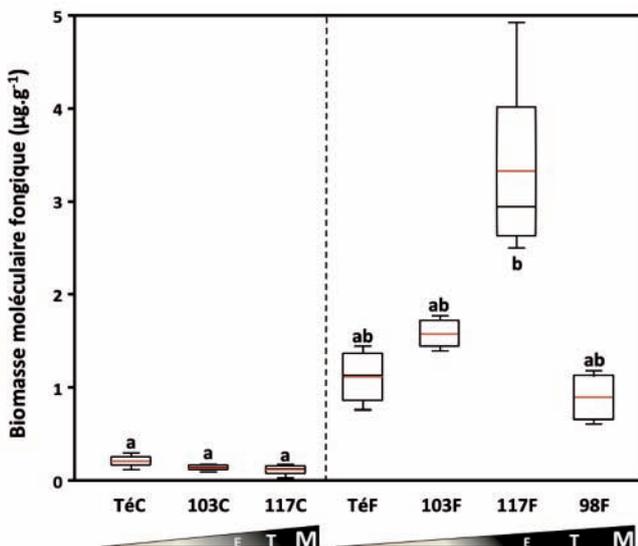


117C & 117F



98F

La quantification de la biomasse moléculaire fongique pour ces parcelles a permis de révéler les résultats suivants :



Biomasses moléculaires fongiques mesurées par PCR quantitative ciblant les séquences spécifiques aux champignons des ADNr 18S (Gangneux *et al.*, 2011). Chaque boîte à moustache représente les valeurs minimale et maximale (—, —), les premier et troisième quartiles (), la médiane (—) et la moyenne (—) mesurées pour chaque parcelle. Les gradients de pollution (▲) des sols par les éléments-trace métalliques (ETM) sont représentés par type d'occupation du sol [parcelles cultivées (x...xC) ou forestières (x...xF)]. Des lettres distinctes (a, ab, b) indiquent une différence significative au seuil $p < 0,05$ (test de Kruskal-Wallis).

Les parcelles du site MetalEurop présentent trois gammes de valeurs (TéC-103C-117C ; TéF 103F-98F ; 117F) réparties en 3 classes statistiques significativement différentes. La clé de différenciation entre les modalités de ce site ne présente aucun lien avec la présence plus ou moins importante de polluants métalliques (Zinc, Plomb, Cadmium) si l'on se réfère au gradient de pollution établi (98F>>117F≈117C>103F>103C>TéF=TéC). En revanche, et conformément aux données issues de la bibliographie (Plassart *et al.*, 2008 ; Gangneux *et al.*, 2011), les parcelles cultivées présentent les biomasses fongiques les plus faibles sur ce site comparées aux valeurs obtenues pour les parcelles forestières. D'un point de vue statistique, la parcelle 117F présente la biomasse fongique la plus importante, significativement différente de celles mesurées dans toutes les autres parcelles, et notamment les parcelles forestières. La conversion récente (2001) de cette parcelle en « forêt » pourrait justifier cette abondance fongique puisque Trap *et al.* (2011) ont montré une augmentation transitoire de la biomasse fongique dans les horizons superficiels 15 ans après l'implantation d'une forêt avant un retour à l'équilibre 50 ans plus tard.

INTÉRÊTS ET LIMITES DE L'INDICATEUR

- + Intègre tous les facteurs modulant la biomasse fongique des sols
- + Sensibilité forte aux changements de pratiques culturales et aux types d'occupation des sols (travail du sol, mode d'occupation).
- Le référentiel sur la biomasse fongique dans des contextes pédoclimatiques contrastés se construit mais manque encore d'universalité faute d'un nombre suffisant de données.
- Une diminution de la biomasse fongique est généralement la résultante d'une combinaison de facteurs.
- La quantification est globale et ne permet donc pas de déceler l'émergence ou la raréfaction de sous-communautés fongiques assurant des fonctions potentiellement cruciales.



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>