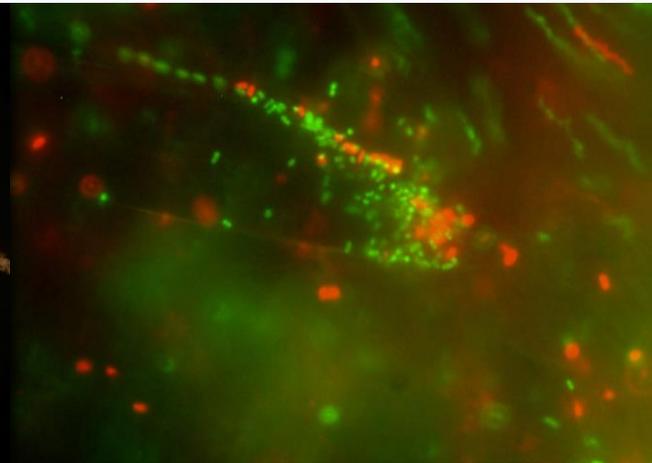


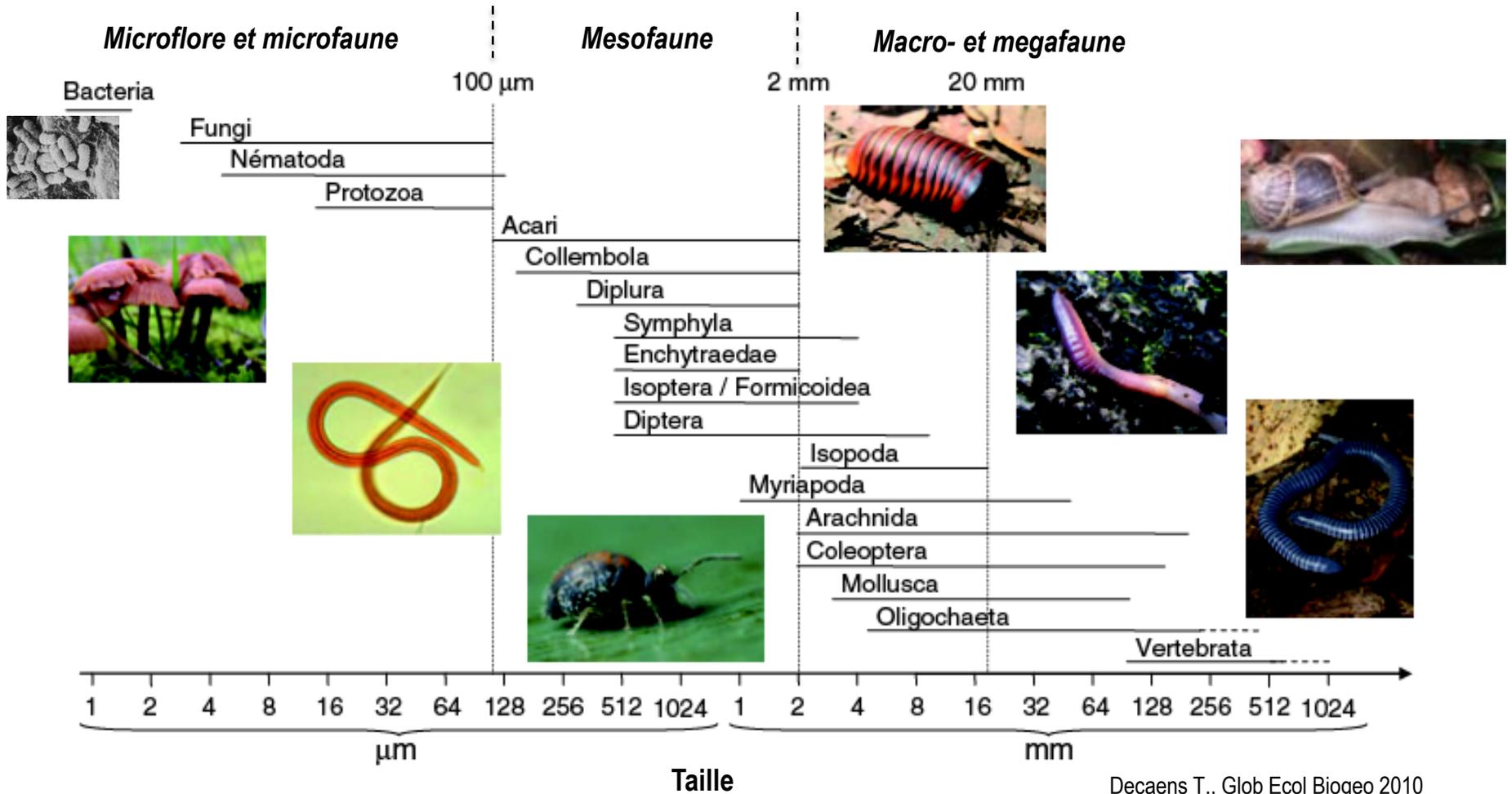


## Aperçu des avancées dans le domaine de la biologie des sols forestiers

UROZ Stéphane, BISPO Antonio, BUEE Marc, CEBRON Aurélie, CORTET Jérôme, DECAENS Thibaud, HEDDE Mickael, PERES Guenola, VENNETIER Michel, VILLENAVE Cécile



Biodiversité d'organismes et de microorganismes dans le sol de tailles différentes



Decaens T., Glob Ecol Biogeo 2010

Premier challenge:

Gérer des organismes de taille variable et avec un distribution variable et un niveau de connaissance hétérogène (taxonomie et/ou fonction)

**ECHELLES DE TAILLE**

## Intégrer la biodiversité des organismes et des microorganismes dans le sol

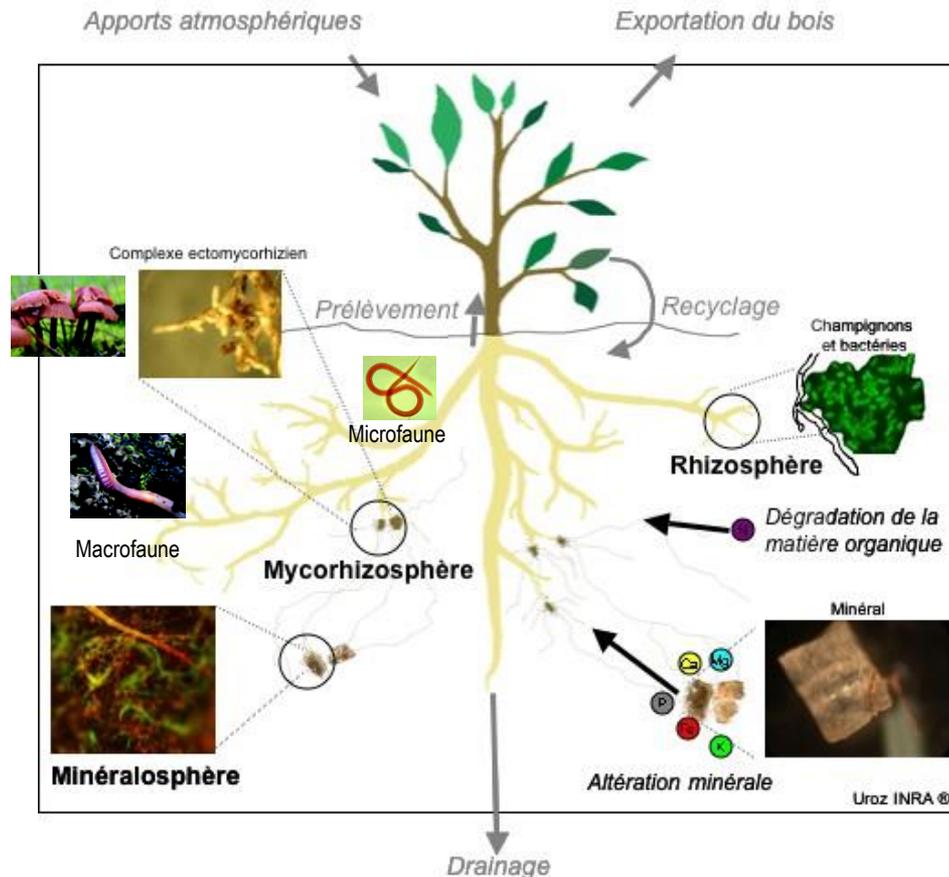
Micro-organismes	Abondance (exprimée par gramme de sol ou surface)
<i>Bactéries</i>	<b>ca <math>10^9</math> b/gr de sol</b> – $10^6$ espèces ou groupes d'espèces différents
<i>Champignons</i>	ca $10^6$ / gr de sol (un système racinaire d'arbre=250 espèces de champignon mycorhizien)
<i>Levures</i>	ca $10^4$ à $10^5$ / gr de sol
<b>Microfaune</b>	
<i>Protozoaires</i>	
Flagellés	9 à 50 ng/ gr de sol
Amibes	$3 \times 10^2$ à $1 \times 10^4$ ng par gr de sol
Ciliés	9 à 70 ng par gr de sol
Nématodes	<b>0.3 à 30 individus par gr de sol</b>
<b>Macrofaune</b>	
<i>Acariens</i>	ca $1,1 \times 10^3$ à $3 \times 10^5$ individus par $m^2$
<i>Collemboles</i>	ca $8 \times 10^2$ à $1,5 \times 10^5$ individus par $m^2$
<i>Lombrics</i>	<b>0 à <math>7,5 \times 10^2</math> individus par <math>m^2</math></b>
<i>Myriapodes</i>	0 à $3,2 \times 10^3$ individus par $m^2$

Deuxième challenge:

**Gérer des effectifs très différents (échelle) et des problèmes de mise en culture...**

**ECHELLES DE DENSITE**

## Rôle de ces organismes et microorganismes dans le cycle des nutriments et la nutrition des arbres



### Cycle des nutriments

- Dégradation MO
- Azote
- Altération des minéraux

### Aération et structuration du sol

### Nutrition et santé des arbres

## ACTEURS, HABITATS, FONCTIONS et FACTEURS STRUCTURANTS

Troisième challenge:

*Identifier les acteurs, leur distribution, leur potentiel fonctionnel et les interactions biotiques (organisme/organisme) et abiotiques (ressources nutritives) qu'ils établissent avec leur environnement*

Des techniques pour appréhender cette biodiversité.....

**Prélèvements**

D'échantillons de sol



De carpophores, d'organismes

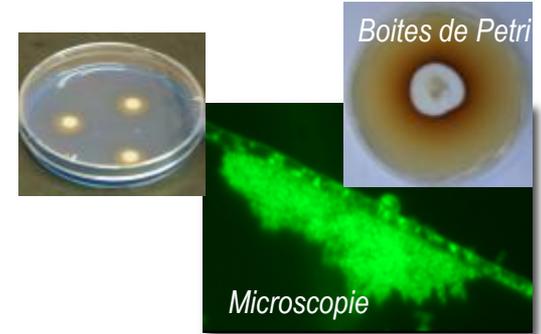


**Inventaire « manuel »**

Extraction, comptage et Identification des organismes (critères morphologiques)



Mise en culture, observation, biotests



**Analyses moléculaires**

Extraction de l'ADN, ARN...

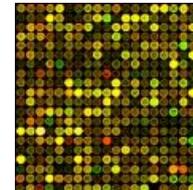
PCR quantitative et puces



Machine PCR

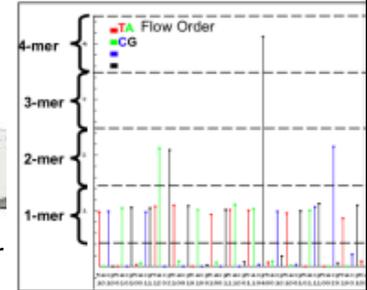


Puces à ADN



Pyroséquenceur

Séquenceae



Des impératifs et limites différents,

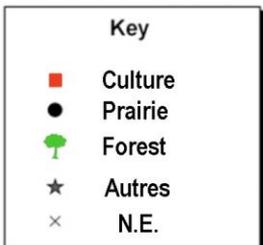
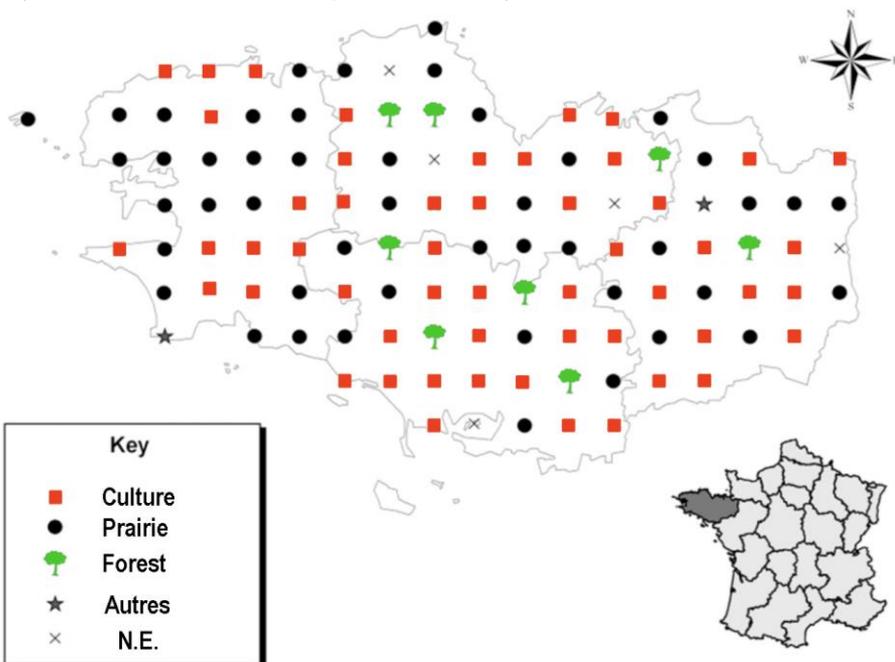
des évolutions techniques différentes.....des développements en cours

Prise en considération du cortège biologique des sols et de la variabilité spatiale.....



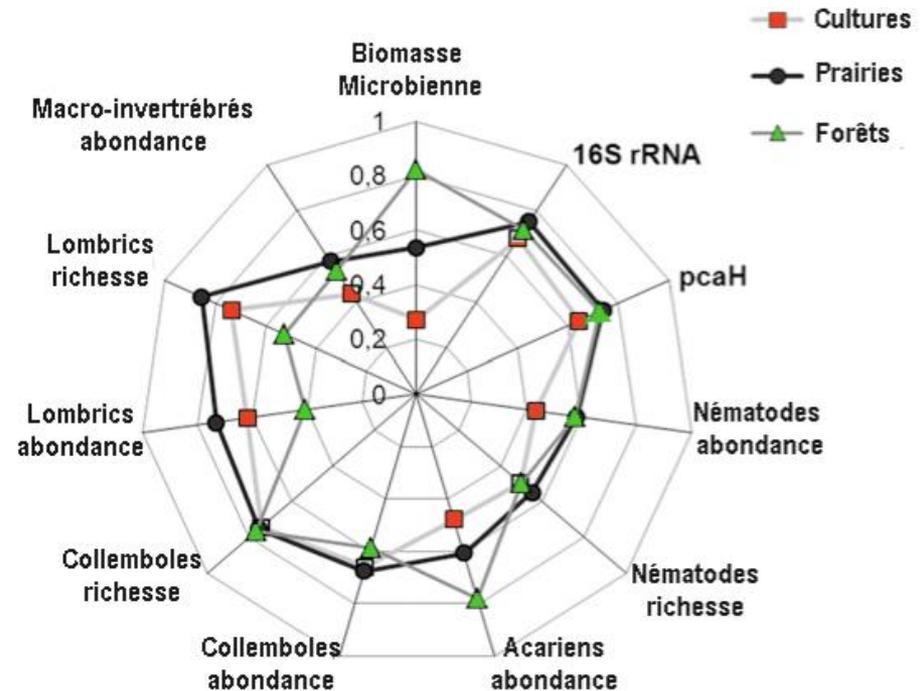
À l'échelle de la région

Ex: Réseau RMQS Bretagne  
(Réseau de mesure de la qualité des sols)



0 16 Kilometers

Source: Université de Rennes1, UMR EcoBio, 2009



Cluzeau *et al.*, European Journal of Soil Biology 2012

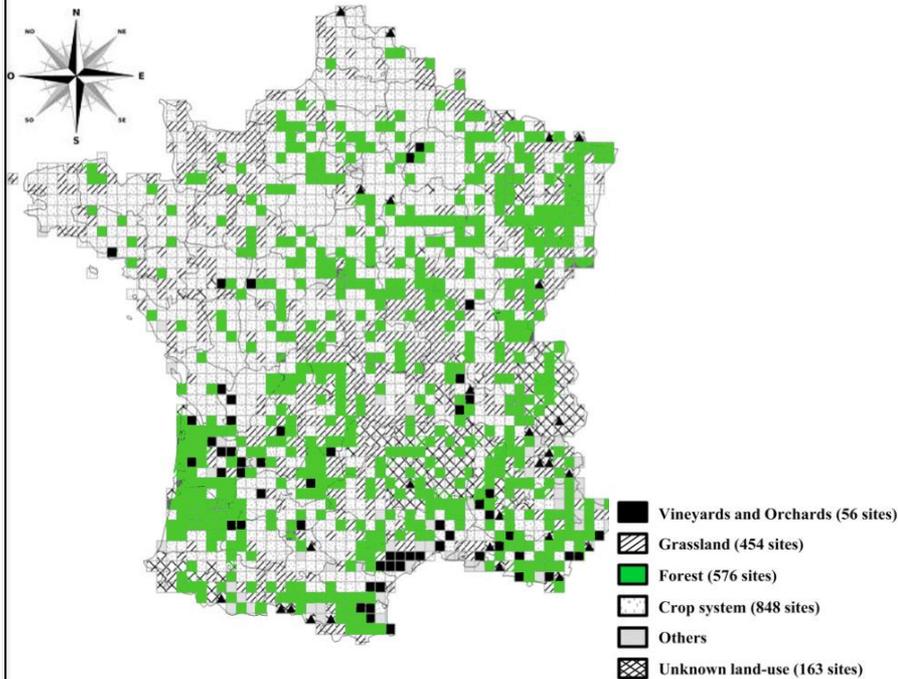
Effet du mode d'usage des sols sur certains indicateurs, ex: biomasse microbienne et Acariens / Forêts>Prairies>Cultures // opposé pour les lombriciens (abondance et richesse) (P>C>F)

Prise en considération du cortège biologique des sols et de la variabilité spatiale.....

À l'échelle de la France

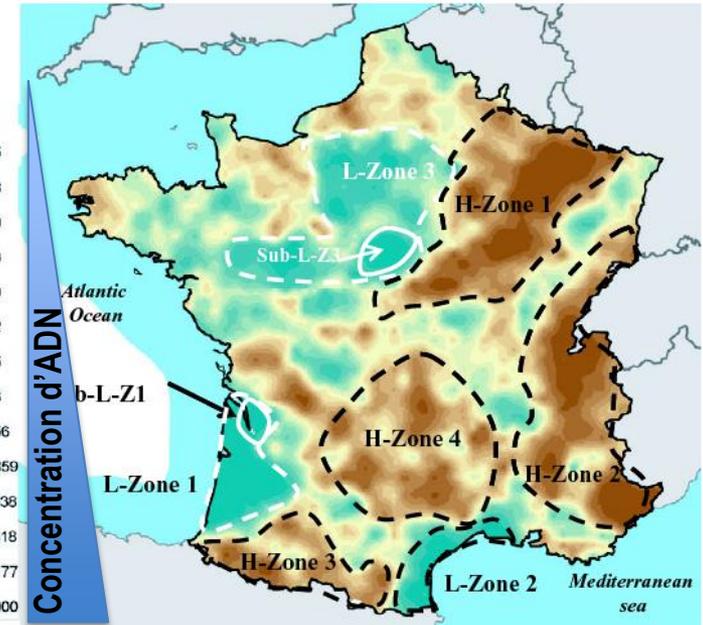
Ex: Réseau RMQS, 2150 échantillons

Grille 16 x 16 km



Quantité d'ADN extrait du sol

DNA recovery  
ng.g<sup>-1</sup> soil



Dequiet *et al.*, Global Ecology and Biogeography 2011  
 Ranjard *et al.*, Nature Com. 2013

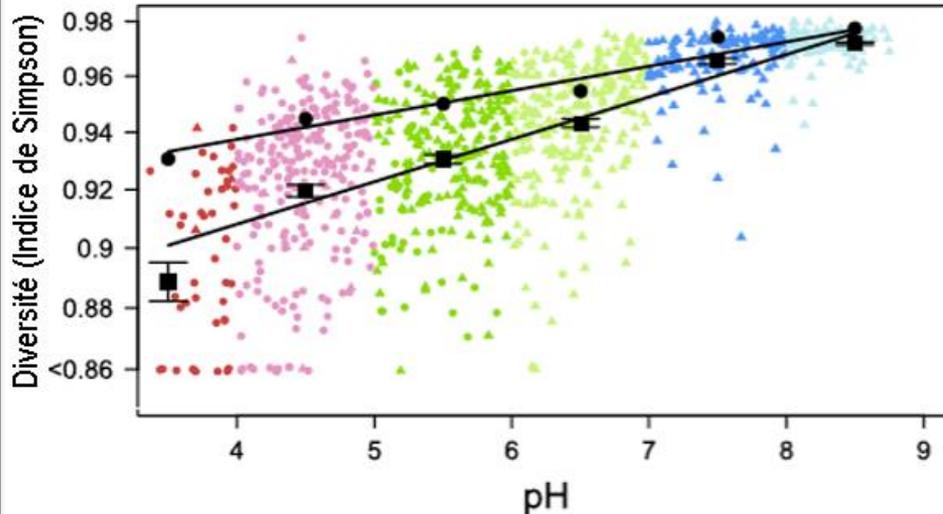
Corrélation entre la biomasse (ADN extrait) et les caractéristiques pédologiques (texture, pH et carbone organique total) et l'usage des sols (ex: monoculture avec faible biomasse). Pas d'effet climatique.

**BIOMASSE (ADN) / SOL**

Prise en considération du cortège biologique des sols et de la variabilité spatiale.....

À l'échelle de l'Angleterre

Ex: 1000 échantillons de sol (0-15cm); T-RFLP (Bactéries)

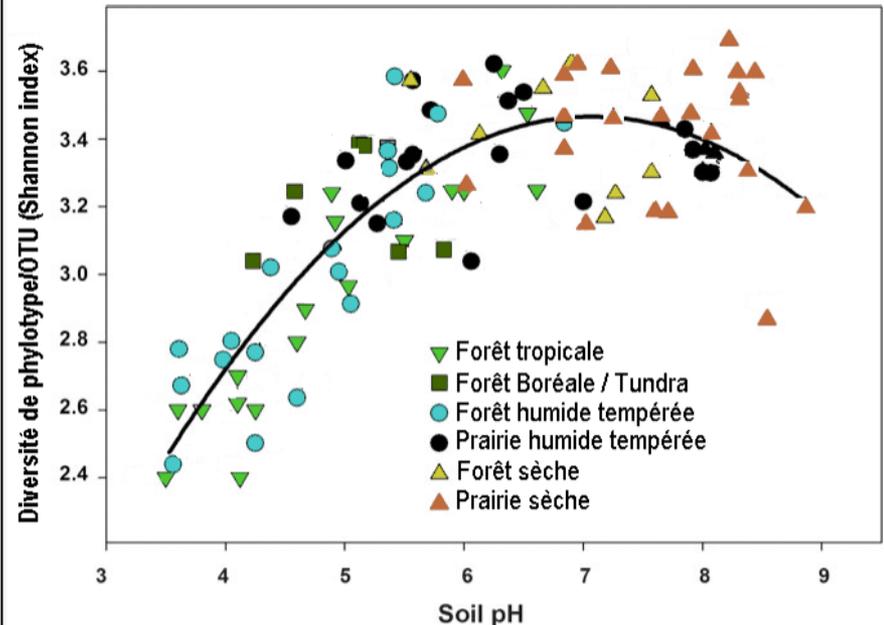


Relation significative avec le pH >Plante>C/N....

Griffiths et al., EM 2011

À l'échelle du continent Nord et Sud Américain

Ex: 98 échantillons de sol (0-5 cm); T-RFLP (bactéries)



Relation significative avec le pH

Fierer et al., PNAS 2006

Corrélation entre la diversité bactérienne et les caractéristiques pédologiques. Le pH un excellent prédicteurs contrairement à la latitude (est-ce la cas pour tous les organismes?).

**LE pH UN FACTEUR STRUCTURANT**

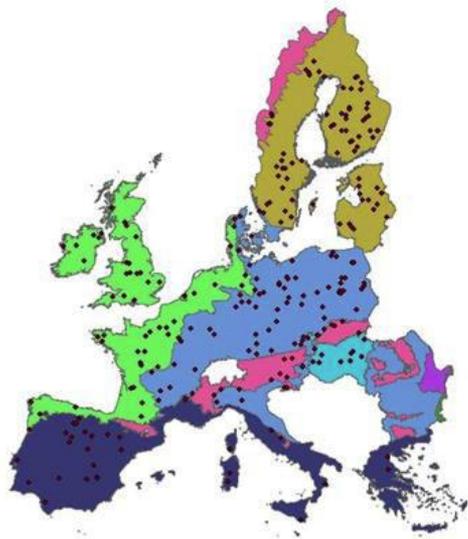
## Prise en considération du cortège biologique des sols et de la variabilité spatiale.....

À l'échelle Européenne  
Ex: Projet ECOFINDER, **pyroséquençage**



Legend

- Biogeo Region
- ALPINE
  - ATLANTIC
  - BLK
  - BOREAL
  - CON
  - MACARO
  - MED
  - PAN
  - STEPPIC



Approche séquençage de gènes marqueurs (barcode)  
par pyroséquençage 454

- Bactéries
- Archéobactéries
- Champignons
- Protistes
- Dikarya
- Nématodes
- Lombriciens



Des millions de séquences générées....

Caractérisation de la biodiversité à l'échelle européenne et identification de potentiels bioindicateurs de l'état des sols (usage de sols, niveau de fertilité...)

**Volonté d'appréhender la diversité du cortège biologique du sol et d'identifier des bioindicateurs**

## Des approches ciblées illustrant l'effet de l'usage des sols

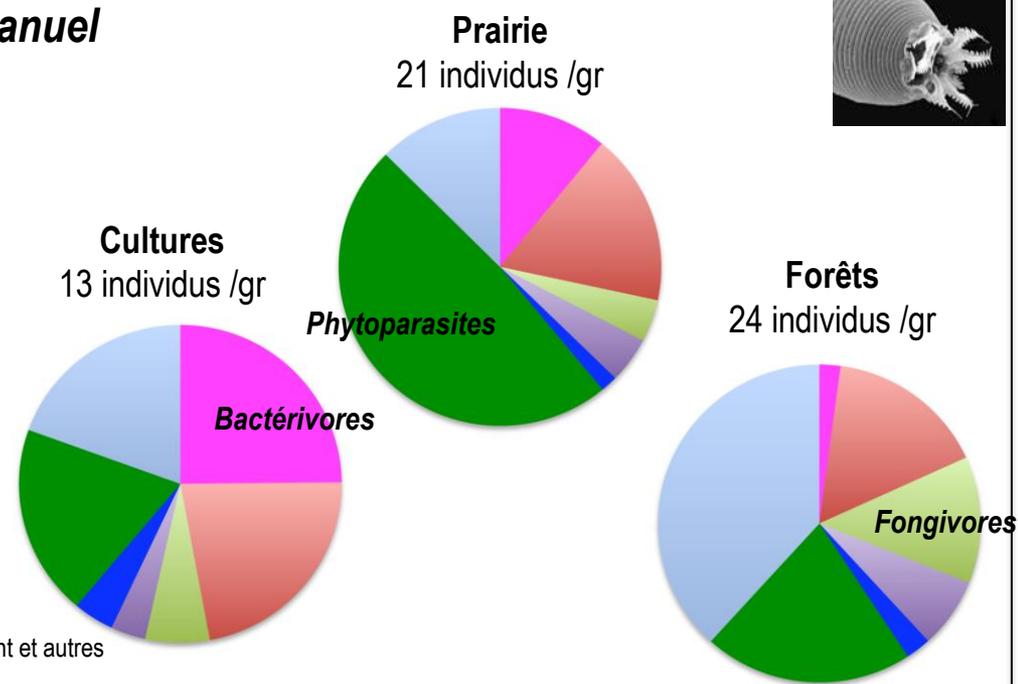
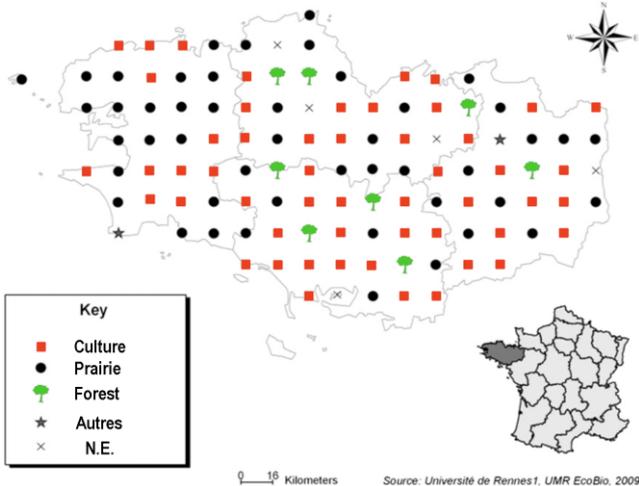


ELISOLenvironnement

Laboratoire  
Campus de la Gaillarde  
2, place Viala, Bât. 12  
34060 Montpellier cedex 2

Adresse administrative  
219 rue des Jacquetières  
01700 Beynost!

### Illustration sur les nématodes: *Inventaire manuel* (ex: suivi du réseau RMQS Bretagne)



- Bactérovores d'enrichissement et autres
- Fongivores
- Omnivores
- Carnivores
- Phytoparasites
- Phytophages facultatifs

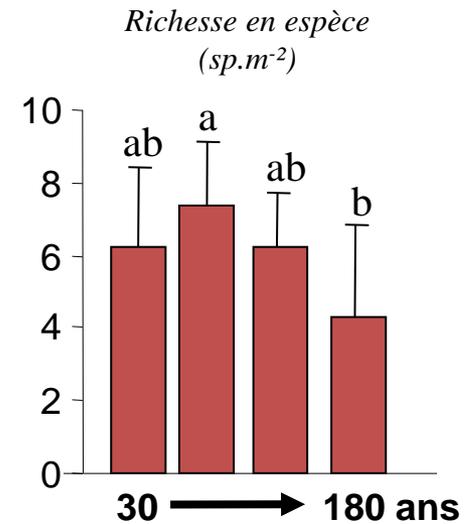
Villeneuve et al., Open J of Soil Sci 2013

- Les nématodes sont plus abondants sous forêt et sous prairies que sous cultures
- Les nématodes 'bactérovores' sont les plus abondants sous cultures
- Les forêts se distinguent par une forte abondance de nématodes 'fongivores'

Des approches ciblées illustrant l'effet de l'âge du peuplement



Illustration sur la macrofaune (vers de terre, mille-pattes et cloportes): *Inventaire manuel*  
(ex: Suivi d'une futaies régulières de hêtre en Normandie, 76)



Hedde et al., An For Sc 2008

La diversité est faiblement influencée

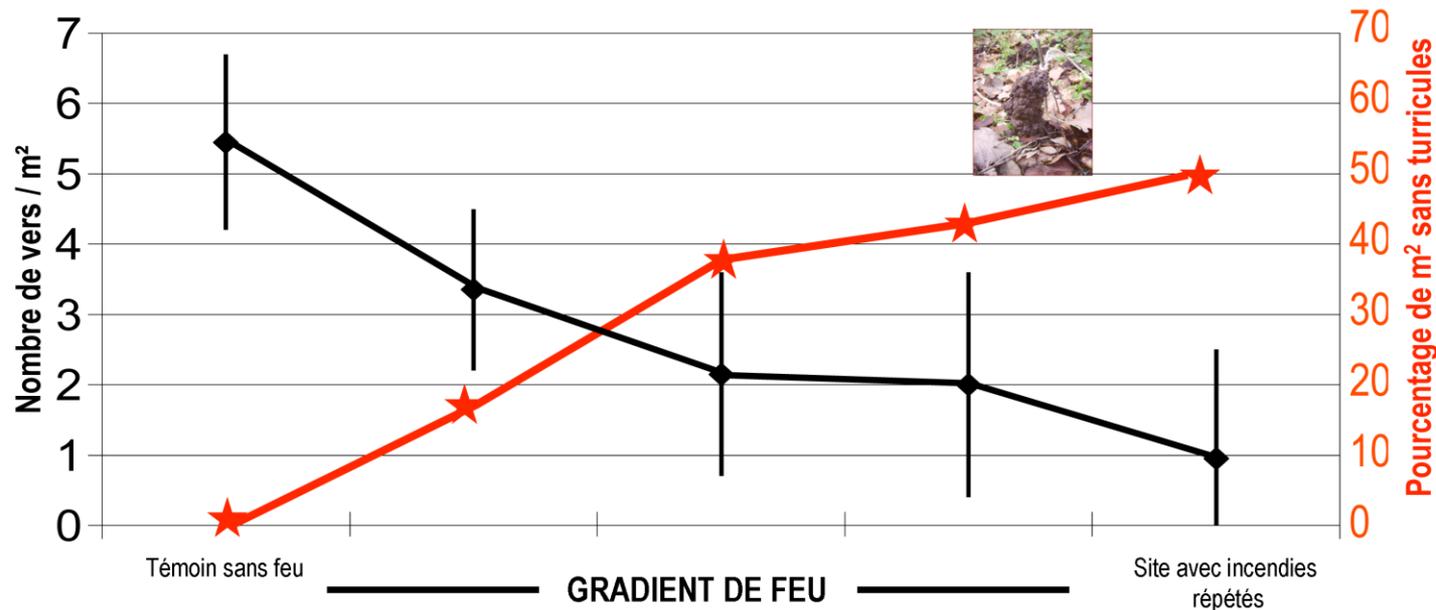
La richesse (nombre d'espèces différentes par m<sup>2</sup>) diminue avec l'âge du peuplement et la qualité des humus

## Des approches ciblées illustrant l'effet variations environnementales: les incendies



### Illustration sur la macrofaune (vers de terre): inventaire (ex: Suivi de sites forestiers de Provence)

Turricules: concentrés d'activités biologiques et d'éléments nutritifs



Nombre d'espèces 4 - 9

5 - 9

4

3 - 4

1 - 2

Cecillon et al. 2009

Plus les incendies se répètent plus les densité de vers de terre et de turricules diminuent, Taux de matière organique diminue, disparition «horizon de sol turricule».

Deux exemples sur les relations entre volume de bois mort et biodiversité (inventaires traditionnels par caractérisation morphologique)



Illustration champignons

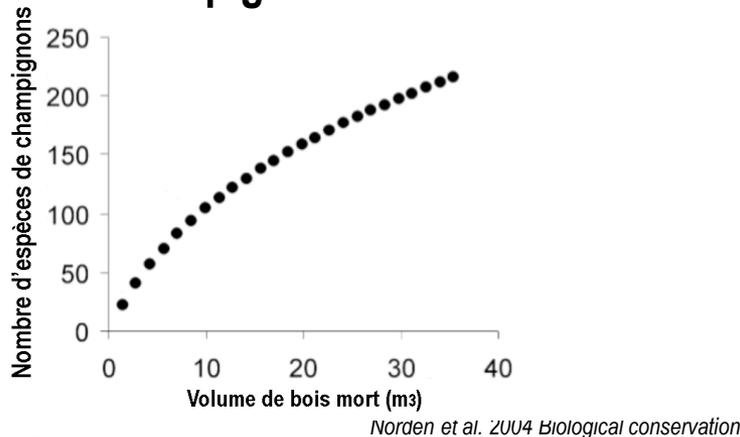
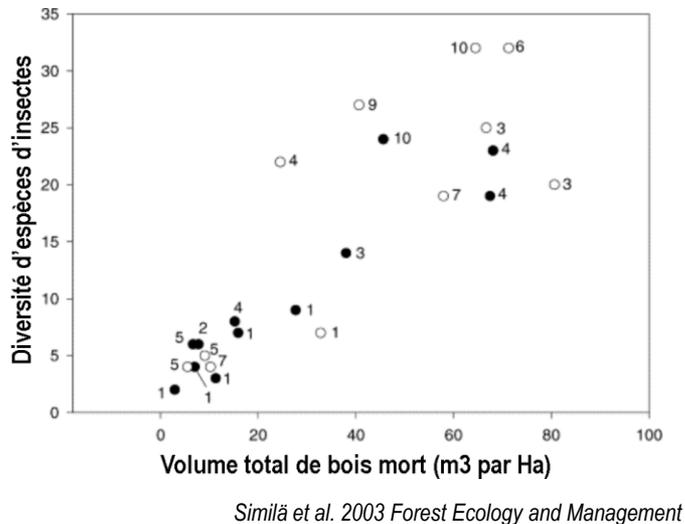


Illustration insectes

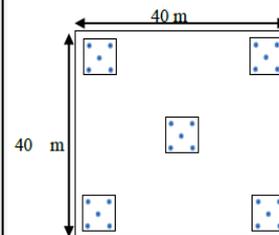


Projet en cours

Gestion des rémanents et menu-bois et biodiversité (approches moléculaires par séquençage haut débit)  
=> Thèse FCPR (Voir Présentation E. Akroume, 11/06 à 17h)



- Hêtre (2013)
- Chêne (2013)
- Douglas (à installer)



**Objectif:** 18 sites en France (hêtre, chêne, sapin de Douglas).  
12 parcelles (40m X 40m) par site.  
Manipulation rémanents, litière foliaire et complémentation cendres.

Collaboration: **ONF**

Projet soumis à l'AAP **ADEME 2013 REACTIF** (REcherche sur l'Atténuation du Changement Climatique par l'agriculture et la Forêt)

Des approches ciblées illustrant l'effet de la fertilité des sols

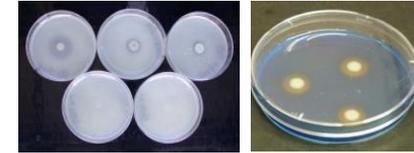
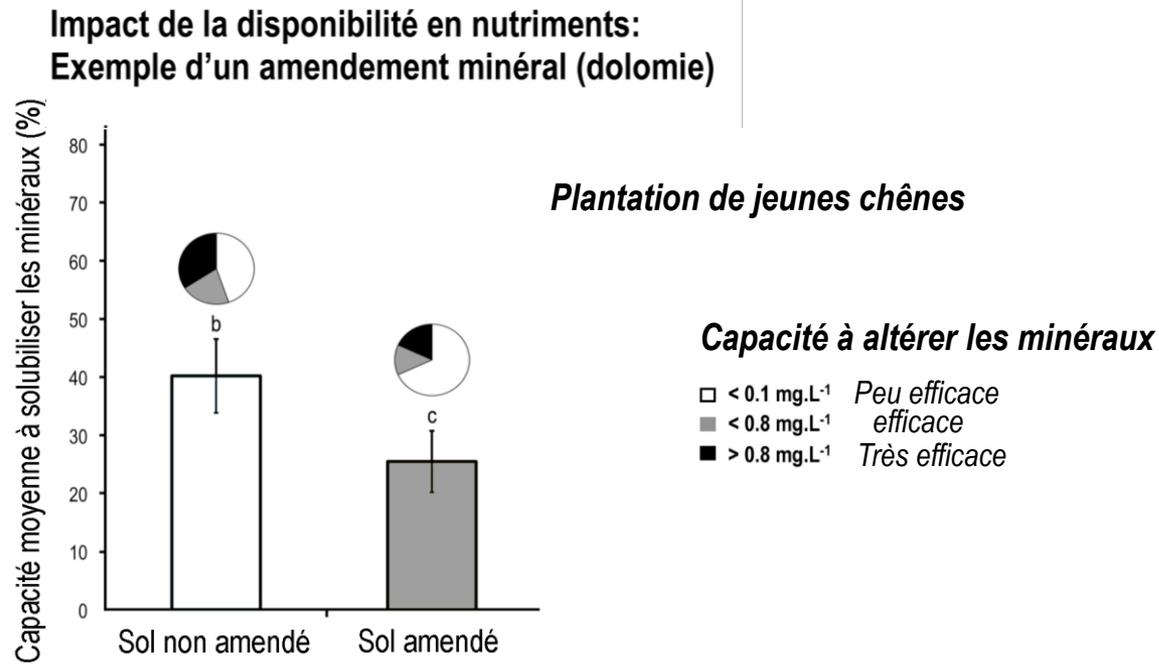


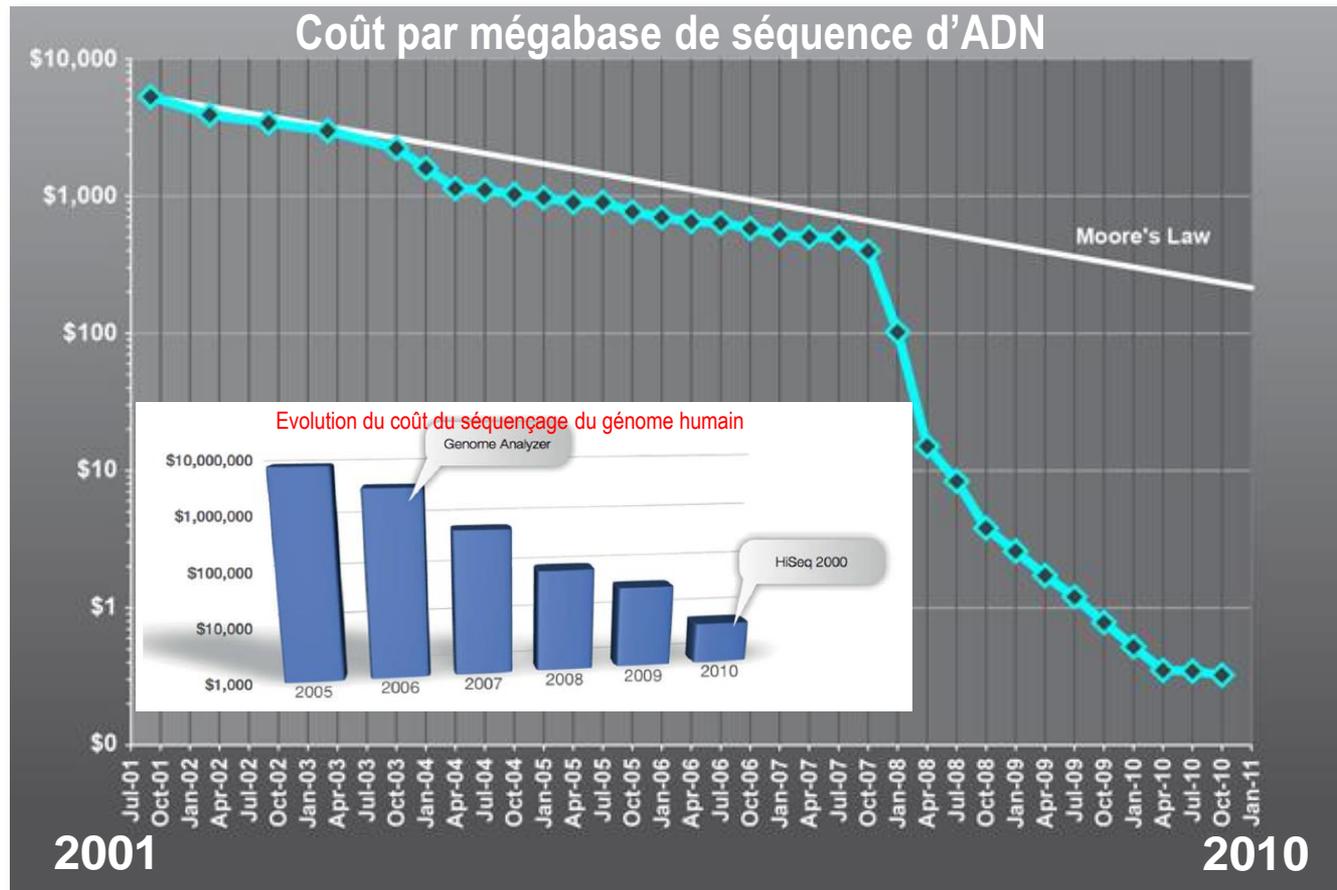
Illustration sur les communautés bactériennes: *Mise en culture et biotests*  
(ex: Analyse ponctuelle sur site forestier de Breuil-Chenue, Morvan)



Lepleux et al. 2013

Un amendement minéral (augmentation des éléments nutritifs disponibles) diminue à court terme la proportion de bactéries altérantes

## Le déluge de séquences.... Passage au séquençage haut débit: une révolution



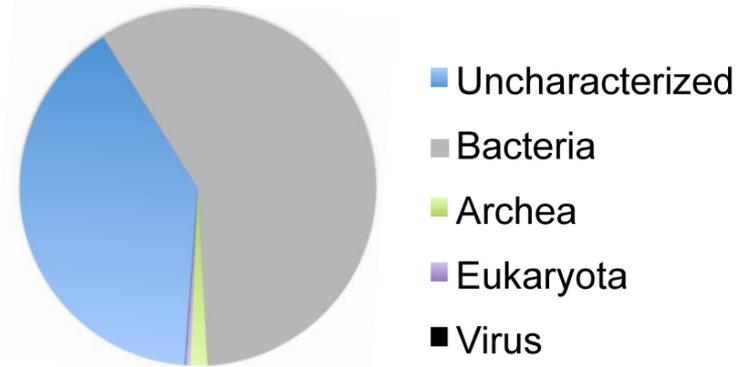
Passage de 10 euros la séquence à 0.006 euros par séquence (prix)  
Passage de quelques 10-100 aines de séquences à millions (résolution)

Des approches globales illustrant l'effet de la fertilité des sols

Illustration de la métagénomique massive:  
(ex: Analyse ponctuelle sur site forestier de Breuil-Chenu, Morvan)



Assignment directe des séquences  
issues des technologies à haut débit  
(pyroséquençage, Illumina)



Ratio eucaryotes/bactéries confirmé par qPCR ( $R=1/100$  to  $1/1000$ )

Des millions de séquences d'ADN générées....

Plus de la moitié des séquences ont pu être assignées (dominance de séquences bactériennes)

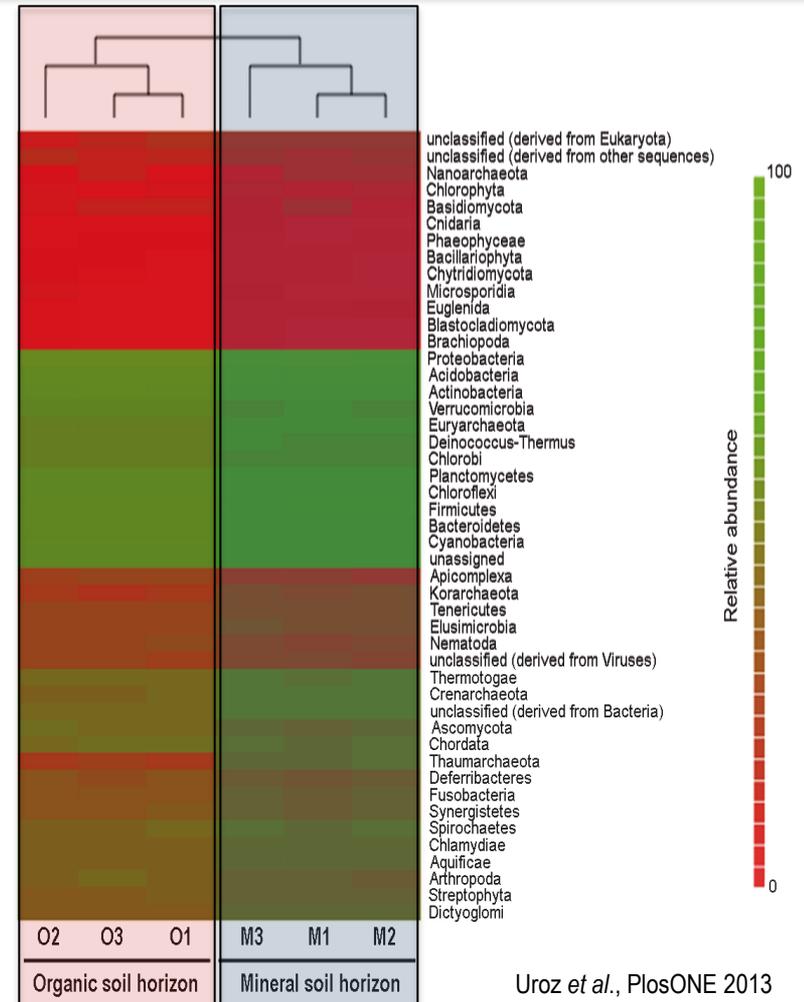
Résultat confirmé par PCR quantitative

## Illustration de la métagénomique massive: Vision taxonomique

DOMAIN		PHYLUM	
O>M	M>O	O>M	M>O
Bacteria**	Archaea***	Proteobacteria**	Firmicute**
Eukaryota**		Bacteroidetes**	Chloroflexi***
		Verrucomicrobia**	Deinococcus-Thermus***
			Euryarchaeota**
		Chordata**	Thaumarchaeota***
			Crenarchaeota***
		Ascomycota**	Chlorobi*
			Thermotogae*
		Arthropoda*	Aquificae**
			Dictyoglomi***
			Fusobacteria**

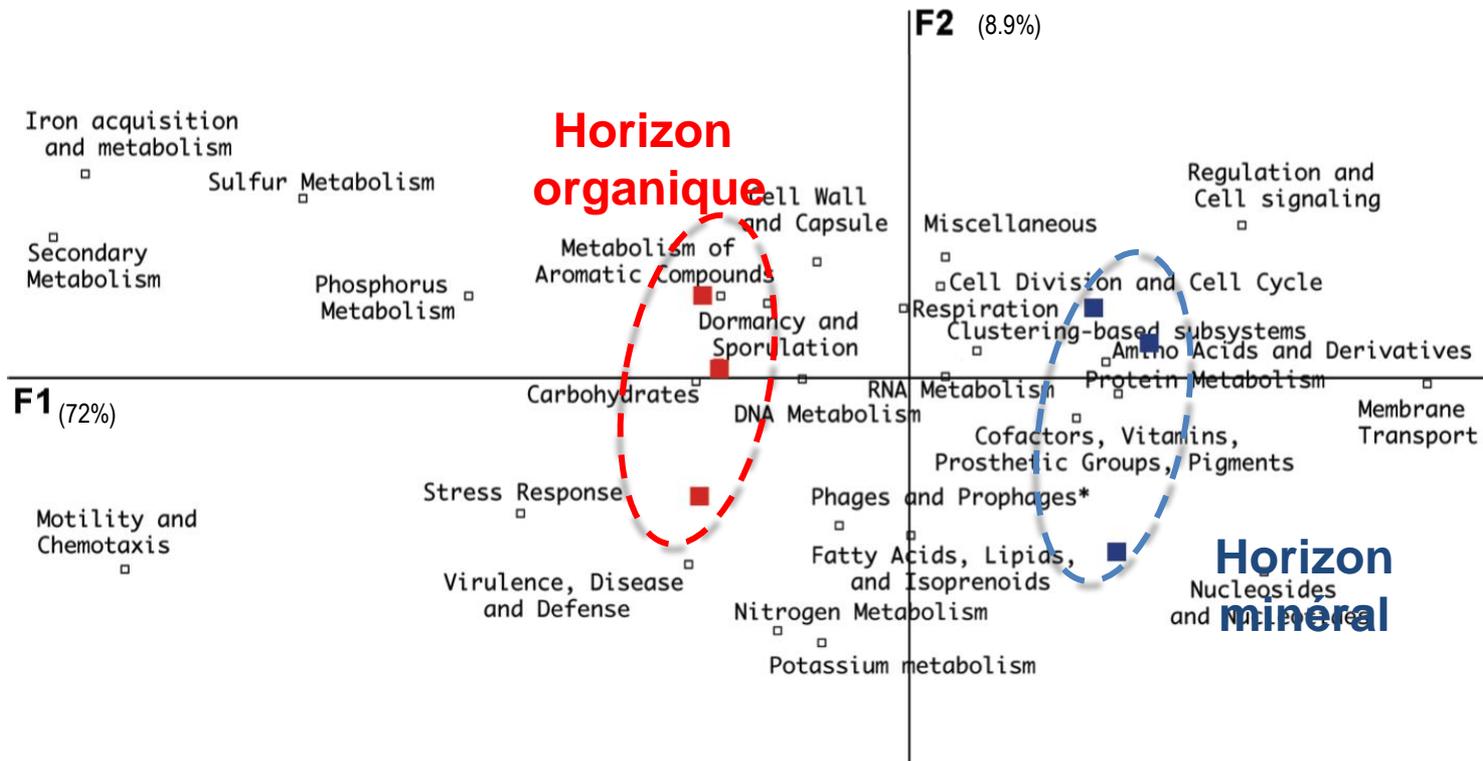
O= horizon organique

M= horizon minéral



Distinction des horizons organique et minéral selon l'abondance relative de taxons spécifiques

## Illustration de la métagénomique massive: Vision fonctionnelle



Uroz *et al.*, PlosONE 2013

Deux technologies de séquençage donnent la même image

Différenciation des horizons de sol en fonction de l'abondance relative de fonctions microbiennes

**CONCLUSIONS:**

**De potentiels indicateurs de l'usage des sols, des variations environnementales**

**Programmes d'études concertées multi-organismes (à poursuivre)**

**Des développements techniques (verrous encore présents)**

**Le séquençage haut débit: une avancée conséquente, mais qui ne permet pas de répondre pas à toutes les questions**

**Fertilité biologique d'un sol ?**

**Difficulté d'installer, entretenir et financer des sites expérimentaux sur le long terme (aide des gestionnaires?)**

**AUTEURS:**

**UROZ Stéphane, BISPO Antonio, BUEE Marc, CEBRON Aurélie, CORTET Jérôme, DECAENS Thibaud, HEDDE Mickael, PERES Guenola, VENNETIER Michel, VILLENAVE Cécile**