

# Inventorier champignons et bactéries

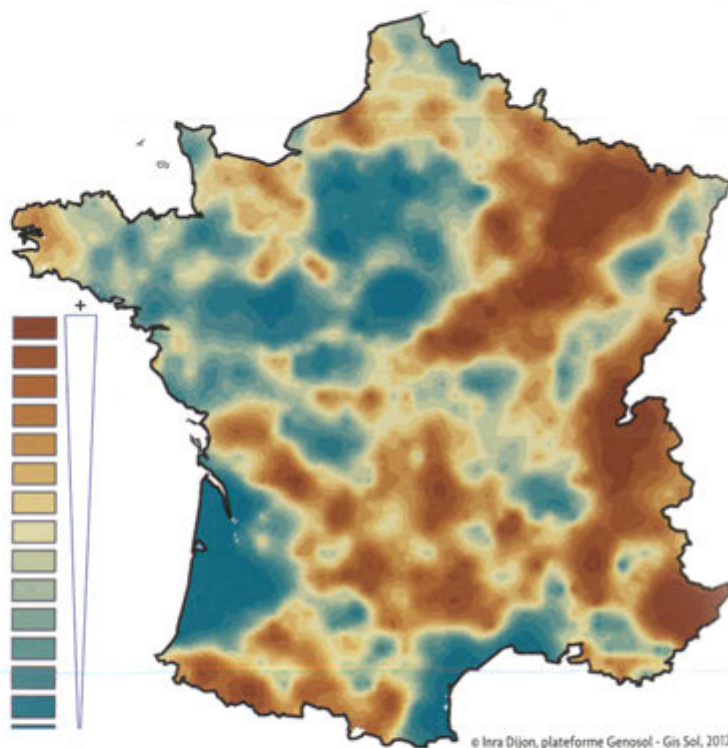
La biomasse vivante du sol est constituée pour les deux tiers de bactéries, champignons et microorganismes invisibles à l'œil nu.

## Mon sol est-il vivant?

➤ Améliorer la biologie du sol pour booster sa fertilité. Beaucoup y aspirent, sans pouvoir mesurer l'effet de leurs pratiques. Des recherches conduites à l'Inra de Dijon ont bâti des outils d'analyse et bientôt de diagnostic.

Par Dominique Martin

Le sol est vivant. Telle est la découverte d'agronomes convertis à l'agroécologie. Les sols agricoles ne sont pas que des supports de cultures, mais de véritables écosystèmes à l'instar de ceux des forêts primaires ou secondaires, davantage étudiés. Ils ont les mêmes fonctions de recyclage et d'entretien de la vie terrestre, sous toutes ses formes. Certains sols brillent par leur richesse biologique, d'autres beaucoup moins. Notre connaissance de cette vie souterraine est en fait juste balbutiante. En nombre d'espèces comme en biomasse, il s'agit en grande majorité de champignons et de bactéries. Depuis cinq ans à l'Inra de Dijon, une poignée d'écologues et de techniciens s'ingénient à lever le voile sur l'abondance et la diversité de cette méga microflore qui peuple les terres de France et d'ailleurs. L'équipe dirigée par Lionel Ranjard a développé divers outils d'analyse moléculaire de l'ADN microbien. Ce savoir-faire unique en Europe permet aujourd'hui d'évaluer de façon quasi exhaustive la vie microbienne des sols. Le projet, intitulé « plateforme Génosol » a consisté dans un premier temps à constituer un conservatoire puis à dresser de premières cartes à l'échelle du territoire français. Il a aussi identifié divers paramètres influençant cette microbiologie de sols. Début 2014, il entre dans une nouvelle phase dite GenoBiome. En s'appuyant sur l'expérience acquise et la bases de données engrangées, il s'agira de proposer un service de diagnostic microbiologique des sols. Voici quelques résultats de ces recherches, leurs méthodes, et les champs qu'elles ouvrent pour les agronomes et agriculteurs.



© Inra Dijon, plateforme Genosol - Gis Sol, 2012

### BIOMASSE MICROBIENNE DE SOLS : DU SIMPLE AU TRIPLE

Cette carte et ce tableau ont été élaborés à partir de l'analyse des 2200 échantillons provenant des campagnes du Réseau de mesures de la qualité des sols (RMQS) du groupement d'intérêt scientifique sur le sol (GIS sol) par maille carrée de seize kilomètres de côté.

Occupation du sol	Concentration moyenne en ADN microbien (en µg/g de sol)
Prairies	83
Forêts	78
Cultures	38
Vignes et vergers	24

Valeurs moyennes France métropolitaine - © Inra Dijon, plateforme Genosol - Gis Sol, 2013



# Les sols morts n'existent pas

Peut-on parler de sols « morts » ou « stériles » ?

**NON** « Parmi tous les sols du conservatoire constitué dans le cadre de GenoSol – plus de huit mille échantillons à ce jour – aucun n'est totalement stérile ou « mort ». « Même dans les plus pollués, des microorganismes parviennent à vivre » souligne Pierre-Alain Maron, directeur scientifique adjoint. Ces êtres présentent des capacités métaboliques qui les rendent capables de survivre aux pires conditions de vie sur (et sous) terre. L'étude de 2195 échantillons représentatifs du territoire français et de ses usages (cf carte) montre que la biomasse microbienne est extrêmement variable. Estimée en quantité d'ADN extraite, elle s'échelonne de 0,1 à 630 microgrammes par gramme de sol. Autrement dit, elle varie d'un facteur un à six mille ! Près des trois quarts des sols présentent des concentrations situées entre vingt et quatre-vingts microgrammes.

Certaines régions sont plus riches en ADN microbien ?

**OUI** Les sols les plus riches se situent en Lorraine, en Champagne-Ardenne et dans les massifs des Alpes, du Massif central, des Pyrénées et des Vosges. Les plus pauvres se trouvent dans le Bassin parisien, les Landes et le Languedoc-Roussillon. Ceux du Sud-Ouest sont un peu en dessous de la moyenne. Ces différences ont plusieurs causes, parfois liées les unes aux autres. Ainsi, les sols sableux et acides sont à l'origine des très faibles biomasses microbiennes inventoriées dans les Landes et en Sologne. À l'inverse, les sols les mieux pourvus sont à la fois argileux, de pH élevé et riches en carbone organique. La forte teneur en argiles procure une structure d'habitat plus favorable aux microorganismes car elle les protège mieux des prédateurs, de la dessiccation et de la diffusion des gaz et éléments toxiques. Il en résulte aussi une meilleure préservation des ressources nutritives en particulier azotées. La composition des communautés bactériennes varie peu selon les climats régionaux ou le relief. Elle dépend surtout de la nature physico-chimique des sols et leur occupation, les deux étant liées. Les différences de diversité constatées entre et au sein des régions s'expliqueraient d'abord par la variété – importante ou non – des paysages.

L'occupation des sols joue donc un rôle majeur ?

**OUI** La biomasse microbienne des sols forestiers ou de prairies est bien supérieure à celles des terres cultivées, vignobles et vergers. Pour les forêts, les feuillus sont plus favorables que les conifères. En zone cultivée, la monoculture se révèle défavorable. Les sols viticoles sont encore en dessous. Cela apparaît nettement (cf carte) dans la région autour de Bordeaux et en zone viticole languedocienne. Sols nus, faibles apports de matière organique, absence de couverts végétaux permanents, fongicides, de nombreux facteurs handicapent la vie microbienne. Qui plus est les sols de vignes sont les plus pauvres. De façon générale, les terrains très acides sont peu propices au développement des microorganismes et à leur variété. Le niveau de biodiversité doit donc s'apprécier à l'échelle locale, en tenant compte des caractéristiques des sols et de leur histoire culturelle.

Certaines pratiques ont un effet favorable ?

**OUI** La pratique de couverts végétaux ou cipan<sup>(1)</sup> tend à augmenter la biomasse microbienne comme le montrent des essais réalisés pour l'Inra de Dijon et Arvalis. D'autres de l'Inra de Grignon et Veolia environnement à Feucherolles (78) valident que des amendements organiques stimulent la vie microbienne et sa diversité. Néanmoins souligne Pierre Alain Maron, tout dépend de la matière organique apportée. Plus elle est facilement dégradable, plus l'effet sera important et instantané mais aussi de courte durée. L'absence de travail du sol et le maintien d'un couvert permanent par les prairies sont favorables, particulièrement aux communautés de champignons.

Travailler le sol, labourer, est-ce nuisible ?

**OUI** et **NON** Curieusement le labour a un effet bénéfique. Il stimule la diversité des bactéries. Celles-ci vivent sur les micro agrégats. Ces organismes sont peu perturbés par un tel brassage. Ce stress moyen a pour elles l'avantage d'homogénéiser le milieu, de disperser les colonies et de mieux

mettre à disposition les éléments nutritifs organiques. Cela dit, il y a un bémol à cette sérénade. Les inventaires taxonomiques montrent que le gain de diversité profite en partie à des bactéries classées pathogènes. Celles-ci sont en effet des espèces opportunistes, aptes mieux que d'autres à coloniser des milieux perturbés où de nouvelles niches écologiques s'offrent à elles. Le non labour ouvre moins la porte aux opportunistes. Labourer a un autre effet négatif. Il nuit aux champignons car il reformate la macro porosité, habitat dans lequel se développent les filaments (hyphes) mycéliens. « La diversité chute, alors que le semis direct la favorise » notent les chercheurs de l'Inra de Dijon. Les couverts végétaux peuvent combler ce problème. Mais la biomasse microbienne la plus forte, la plus diverse et la mieux équilibrée dans ses fractions bactériennes et fongiques est apparue dans les sols en semis direct avec couvert végétal (cipan) dans l'essai conduit à Boigneville.

Un sol riche en biodiversité fonctionne-t-il mieux ?

**OUI** Au moins deux grandes fonctions biologiques en profitent. Des essais montrent qu'une biodiversité élevée améliore la minéralisation de matières organiques jusqu'à +50%. De même, en conditions de laboratoire, elle peut augmenter la capacité de dénitrification des sols de 70% et plus. Toutes ces populations microbiennes s'alimentent à la grande table des matières organiques. Chacune exerce des talents spécifiques comme décomposer la cellulose, les sucres, la lignine, etc. Mais on a pu observer que certaines fonctionnent mieux quand d'autres sont également présentes. Sans parler de coopération, il y aurait là des effets de facilitation et de complémentarité. Le sol reste un milieu très hétérogène, à l'échelle du moins des bactéries et champignons, formé de micro habitats aux conditions de vie très différentes. Un sol riche en biodiversité offrirait de fait un niveau de colonisation supérieur de toutes ses niches écologiques. Habité dans ces moindres recoins, il connaîtrait ainsi une meilleure exploitation locale et de là globale de ses ressources.

(1) CIPAN : culture intermédiaire piégée à nitrates.



**Conservatoire**  
Ressources Génétiques des Sols

---

**DE GÉNOSOL AU GENOBIOME**  
Dijon abrite l'unité mixte de recherche Agroécologie regroupant des chercheurs de l'INRA, d'AgroSup Dijon et de l'Université de Bourgogne. Elle héberge la plateforme GenoSol créée en 2008 suite à un projet ANR. Cet outil technologique est né d'un premier travail d'analyse de la microflore des sols hébergés au conservatoire InfoSol à Orléans, représentatif du territoire français (Réseau de mesure de la qualité des sols – RMQS – Gis Sol). Un miroir de cette collection a été constitué à Dijon et installé en conditions contrôlées : dessiccation de 50 à 100 g et congélation à -40°C. GenoSol a permis la mise au point d'une logistique de gestion des échantillons, de méthodes d'analyses moléculaires adaptées et standardisées, de modèles mathématiques et d'une base de données pour l'interprétation. Aujourd'hui, la plateforme est devenue un centre de ressource biologique unique en France et en Europe, dédié à la conservation et à l'analyse des ressources génétiques des communautés microbiennes du sol avec plus de 8000 échantillons conservés (+1500 par an). Il est tenu à disposition de la communauté scientifique de même que les technologies de pointe nécessaires à leur caractérisation. Le futur laboratoire GenoBiome s'appuiera sur le savoir-faire et l'expertise de la plateforme GenoSol. Il proposera un diagnostic microbiologique (quantité et qualité) des sols et de leur environnement.



Sol de Grandos Cultures



Sol de Prairies



Sol de Forêt

---

**LA BIODIVERSITÉ REMPART CONTRE LES PATHOGENES ?**  
Des travaux de l'UMR Agroécologie ont montré que la diversité microbologique joue un rôle de barrière vis-à-vis de l'installation de pathogènes. Une des expériences a consisté à réduire artificiellement et de façon contrôlée le niveau de diversité d'un sol avant de l'inoculer avec la bactérie *Listeria monocytogenes*. Au bout de cinq jours, le germe n'était plus décelable dans le sol ayant conservé sa diversité d'origine. Quand celle-ci a été réduite à un faible niveau, la bactérie était toujours détectable au bout de vingt jours. L'hypothèse avancée est qu'une diversité élevée conduit à une compétition sur les ressources et l'espace disponibles. Ce qui formerait une barrière pour l'implantation d'espèces pathogènes opportunistes.

L'analyse de la structure génétique des communautés microbiennes fournit les profils en bandes complexes.



ANR  
INRA  
UNIVERSITÉ DE BOURGOGNE  
AGRO SUP DIJON



## Point de vue

Pierre-Alain Maron  
« Des outils bientôt  
accessibles  
aux agronomes  
et agriculteurs »

### » Comment mesure-t-on la vie dans le sol ?

« Les méthodes classiques d'estimation de la biomasse vivante du sol reposent sur la liquéfaction et l'extraction du carbone. A partir de cette mesure de la matière organique totale, on estime les parts du vivant et du non vivant. Cela donne une information très parcellaire car on ne peut en déduire quelles communautés de microorganismes sont présentes. Il n'existe pas de référentiel associé qui permettrait de se situer sur une échelle ou par rapport à d'autres situations comparables. Ces analyses sont très peu pratiquées. D'autres méthodes indirectes de laboratoire mesurent l'activité respiratoire dans les sols. Elles ne sont pas plus diffusées ni appuyées sur des valeurs de référence. Elles n'apportent aucune information sur la biodiversité des espèces en présence. C'est pourquoi nous avons développé de nouveaux outils basés sur l'analyse moléculaire de l'ADN. Ils sont à la fois quantitatifs, qualitatifs, permettent des débits importants et donc de créer rapidement un référentiel. »

### » Quelles sont ces méthodes moléculaires ?

« Toute cellule vivante contient des molécules d'ADN qui codent son information génétique. Y compris les champignons et bactéries. Notre méthode consiste à récupérer l'ensemble de ces molécules directement dans un échantillon de sol puis de les caractériser. Ainsi nous pouvons dresser l'inventaire de toutes les espèces qu'il contient et les quantifier. Si nous passions par des cultures de colonies en boîtes, non seulement cela prendrait beaucoup de temps, mais pour 95 % des microorganismes du sol, nous n'aurions pas la bonne recette pour les faire pousser. La méthode moléculaire est à la fois exhaustive et rapide. Concrètement, nous prenons un gramme de sol que nous mettons en solution avec des détergents puis nous



Pierre-Alain Maron est le directeur scientifique adjoint de la plateforme GenoSol.

La banque des ressources génétiques microbiennes du sol de GenoSol est unique en Europe.

introduisons des microbilles abrasives avec une agitation à forte vitesse. Peu à peu, nous avons perfectionné les choses pour extraire de plus en plus de diversité génétique. Une fois extraite, nous pesons cette masse de molécules. Elle avoisine en moyenne un dix millionième de gramme pour un gramme de sol. Pour appréhender la biodiversité, nous extrayons ensuite un gène particulier appelé gène ribosomique. Il existe chez tous les êtres vivants mais avec des variantes. Puis nous séquençons ces gènes avec des outils de dernière génération dits de pyroséquençage. Nous sortons ainsi un listing de millions de séquences qu'il faut trier car la technologie crée aussi des chimères. En comparant dix mille séquences avec notre base de données, nous identifions les populations ou tout au moins les affiliations à leur phylum (parenté). Chaque sol est alors défini par une forme de code-barres génétique qui décrit les communautés en présences, leur diversité et leurs importances respectives. »

### » Ces outils seront-ils bientôt disponibles ?

« Aujourd'hui nous avons déjà commencé à faire des prestations. La plateforme GenoSol a déjà réalisé des projets de partenariats et des prestations sur-mesure avec des industriels comme par exemple l'efficacité

de compléments de fertilisation. Ceci dans un contexte confidentiel de recherche et développement. Par ailleurs nous avons lancé le projet GenoBiome mi 2013. Il s'agit d'un laboratoire de prestations monté sous la forme d'une business unit, hébergée sur le site Inra de Dijon. Le catalogue des prestations proposées est en cours de finalisation et nous sommes en phase test. Nous travaillons sur le rendu des résultats pour qu'ils soient facilement intelligibles. »

### » A qui et à quoi cela servira-t-il ?

« Ces outils sont à la disposition des agronomes et des agriculteurs. Les méthodes d'échantillonnage des sols sur le terrain ont beaucoup de similitude avec ce qui est pratiqué pour une analyse de sol classique physico-chimique. Cette dernière est obligatoirement couplée au diagnostic microbiologique pour pouvoir interpréter les résultats. Il est possible de mesurer l'impact de nouvelles ou de changement de pratiques en post récolte ou en comparant par exemple deux parcelles. Notre rôle n'est pas de dire comment s'en servir, mais de donner accès à ces nouveaux outils. Pour les valoriser encore mieux, il faudra sans doute travailler à l'échelle locale avec les agronomes pour y élaborer des référentiels propres, qui viendront étoffer celui aujourd'hui à notre disposition. »



Plus de huit mille cinq cents échantillons de sol sont conservés à -40°C.



Après dessiccation et congélation, l'ADN des communautés microbiennes est ainsi préservé.



Le conservatoire alimente les congélateurs de la DNA-thèque gérés par Mélanie Le Lièvre, responsable du service caractérisation moléculaire.



L'ADN des microorganismes a été extrait et purifié afin de réaliser les différentes analyses moléculaires.



Invisible car microscopique. Méconnue car souterraine. La vie microbienne assure les principales fonctions biologiques à l'oeuvre dans les sols. Bactéries et champignons y prospèrent pour autant qu'ils y trouvent à la fois le gîte et le couvert. Un seul gramme de terre peut contenir un milliard de bactéries affiliées à un million d'espèces. Celles-ci cohabitent avec jusqu'à un million de champignons microscopiques eux-mêmes appartenant à des dizaines de milliers d'espèces. Les sols les plus riches en vie microbienne sont ceux des forêts de feuillus et de prairies.

► Quesako ?

## LA VIE MICROBIENNE DES SOLS

### DÉCOMPOSEURS

Dans le cycle du carbone, les microorganismes jouent le rôle d'intermédiaires entre les matières organiques et les plantes. Ils referment ce cycle en dégradant les premières, libérant ainsi des nutriments minéraux (azote, phosphore, potassium, etc.) assimilables par les secondes. Sans cela, la matière organique fabriquée par les plantes ne ferait que s'accumuler et le milieu de vie ne ferait que s'appauvrir en nutriments.

### FACILITATEURS

Les bactéries fixatrices d'azote aérien, libres ou symbiotiques, comme les champignons mycorhiziens qui captent le phosphore, sont de précieux alliés pour les plantes. D'autres microorganismes stimuleraient leur croissance ou les protégeraient de pathogènes, par des voies encore mal identifiées.

### COHABITATION

Les agents microbiens du sol cohabitent avec d'autres êtres vivants classés dans la micro et la macro faune, les plus imposants étant les vers de terre. Ces terrassiers ingénieurs des travaux publics souterrains améliorent la distribution des matières organiques. Ils permettent ainsi aux bactéries et champignons de coloniser plus facilement le milieu.

**CHIMISTES AGRÉGATEURS.** Dès l'apport de matières organiques fraîches, le travail des microorganismes libère des composés chimiques qui augmentent fortement la stabilité structurale du sol. Tout au long de leur action de décomposition des molécules carbonées, champignons et des bactéries jouent un rôle prédominant dans le processus d'agrégation des constituants physiques du sols et le maintien de la cohésion des agrégats à l'origine de la microporosité. Cette dernière est indispensable au bon fonctionnement des racines.