

Caractériser les micro-organismes des sols et litières

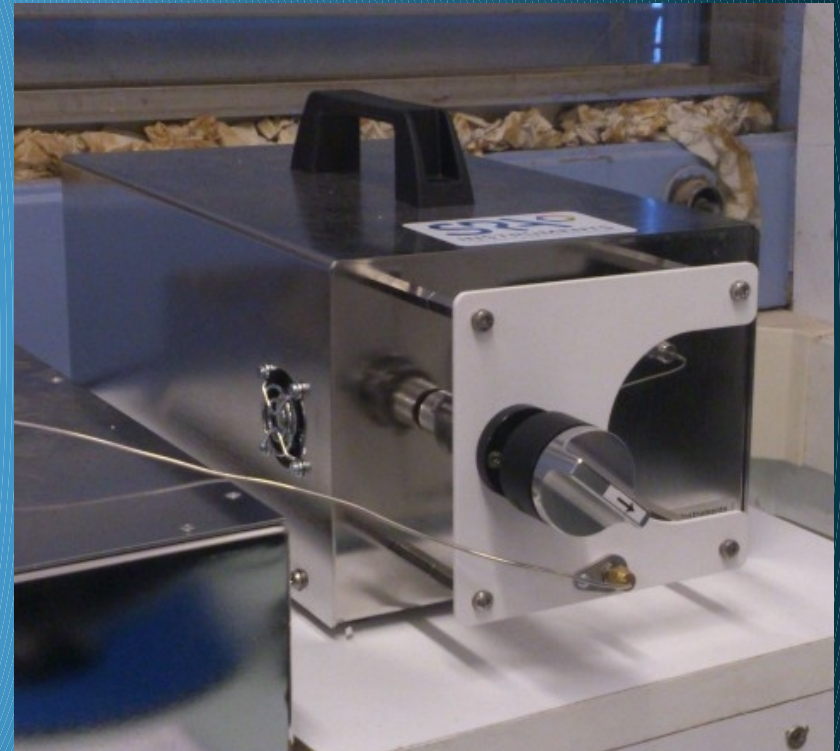


Nicolas Barthes – PACE, CeMEB
Ammar Shihan – CEFE

Respiration potentielle

Micro-catharomètre

Il s'agit d'un chromatographe dédié à l'analyse de gaz. Celui présent à la PACE est équipé pour le CO₂.

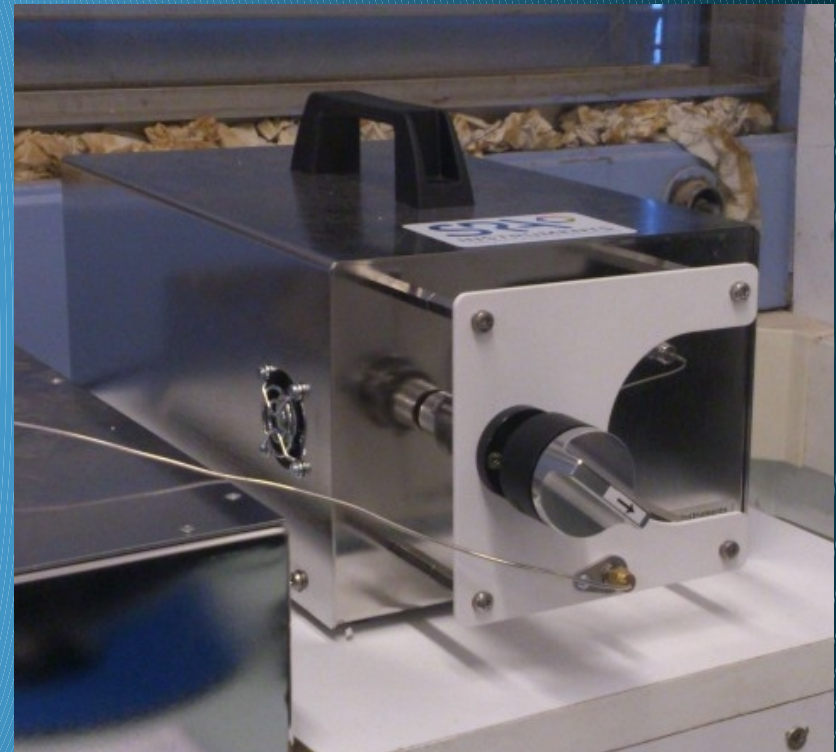
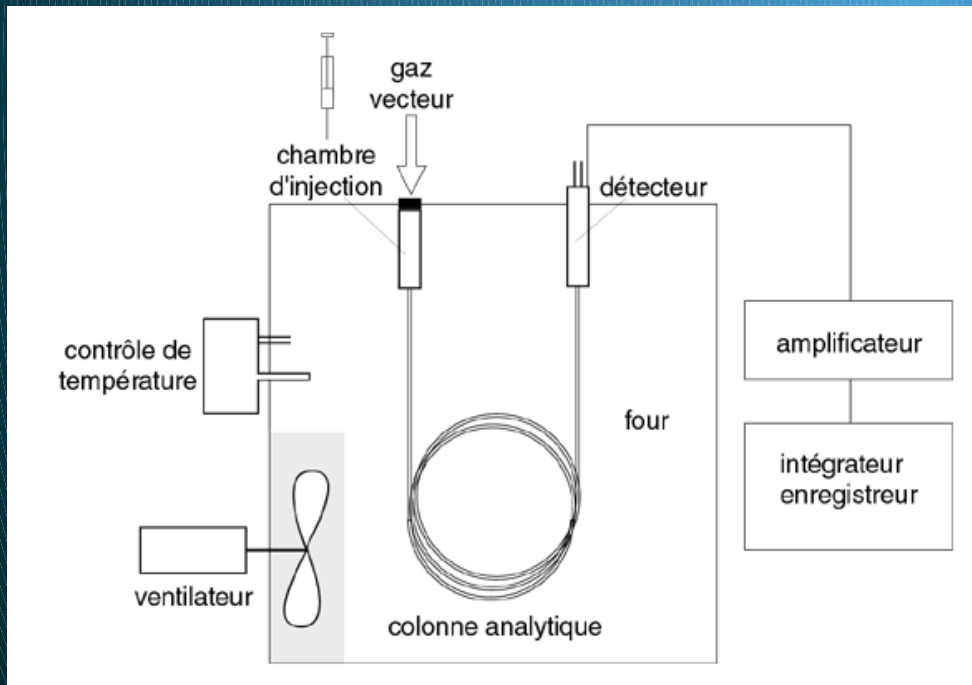


10 μ L de gaz
Analyse < 2min

Respiration potentielle

Micro-catharomètre

Il s'agit d'un chromatographe dédié à l'analyse de gaz. Celui présent à la PACE est équipé pour le CO₂.



10 μ L de gaz
Analyse < 2min

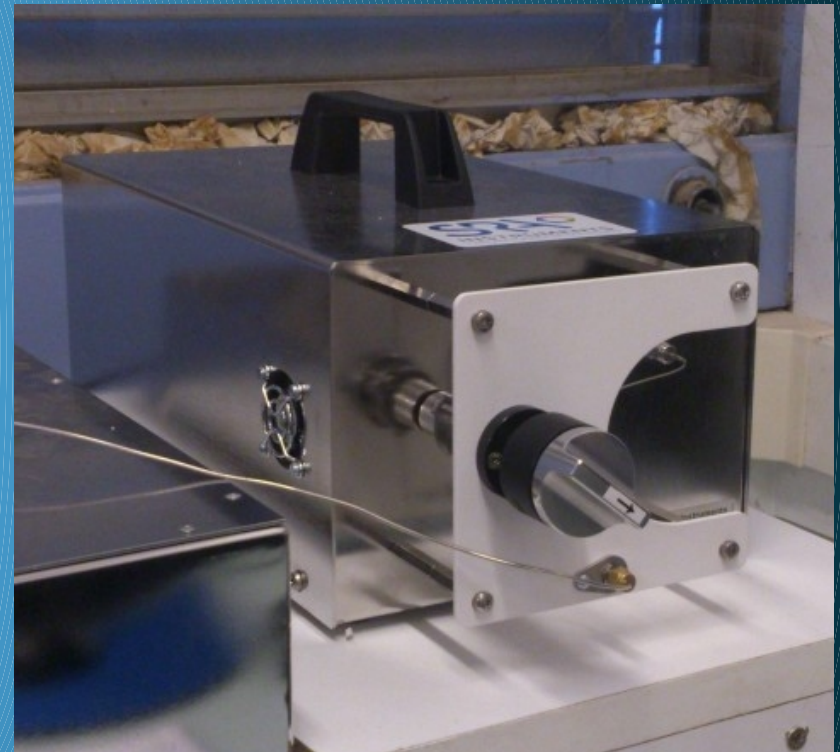
Respiration potentielle

Micro-catharomètre

Il s'agit d'un chromatographe dédié à l'analyse de gaz. Celui présent à la PACE est équipé pour le CO₂.

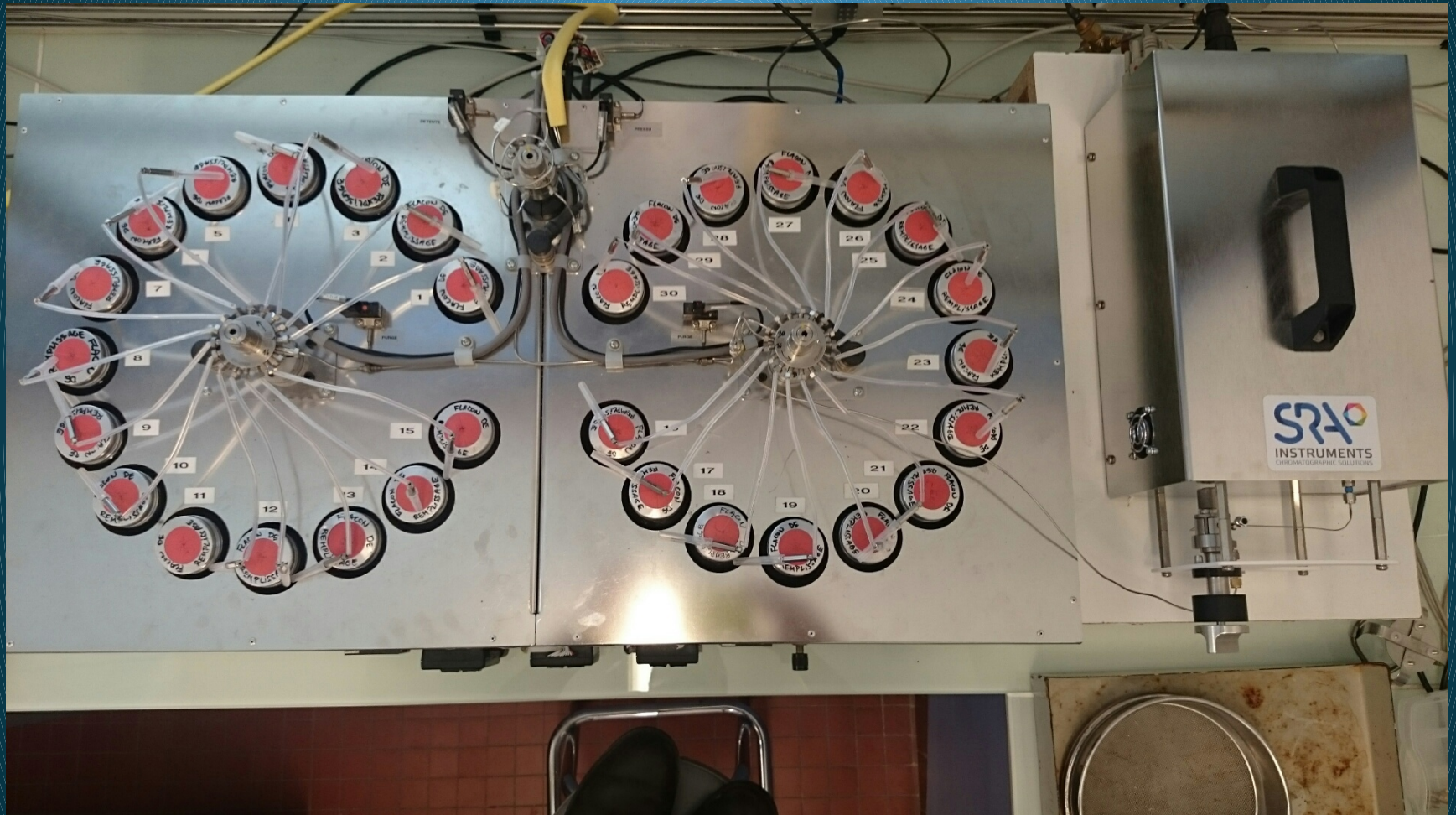
La détection est basée sur la conductivité thermique des gaz.

Bonne sensibilité – large gamme :
~1 à 40 000 ppm

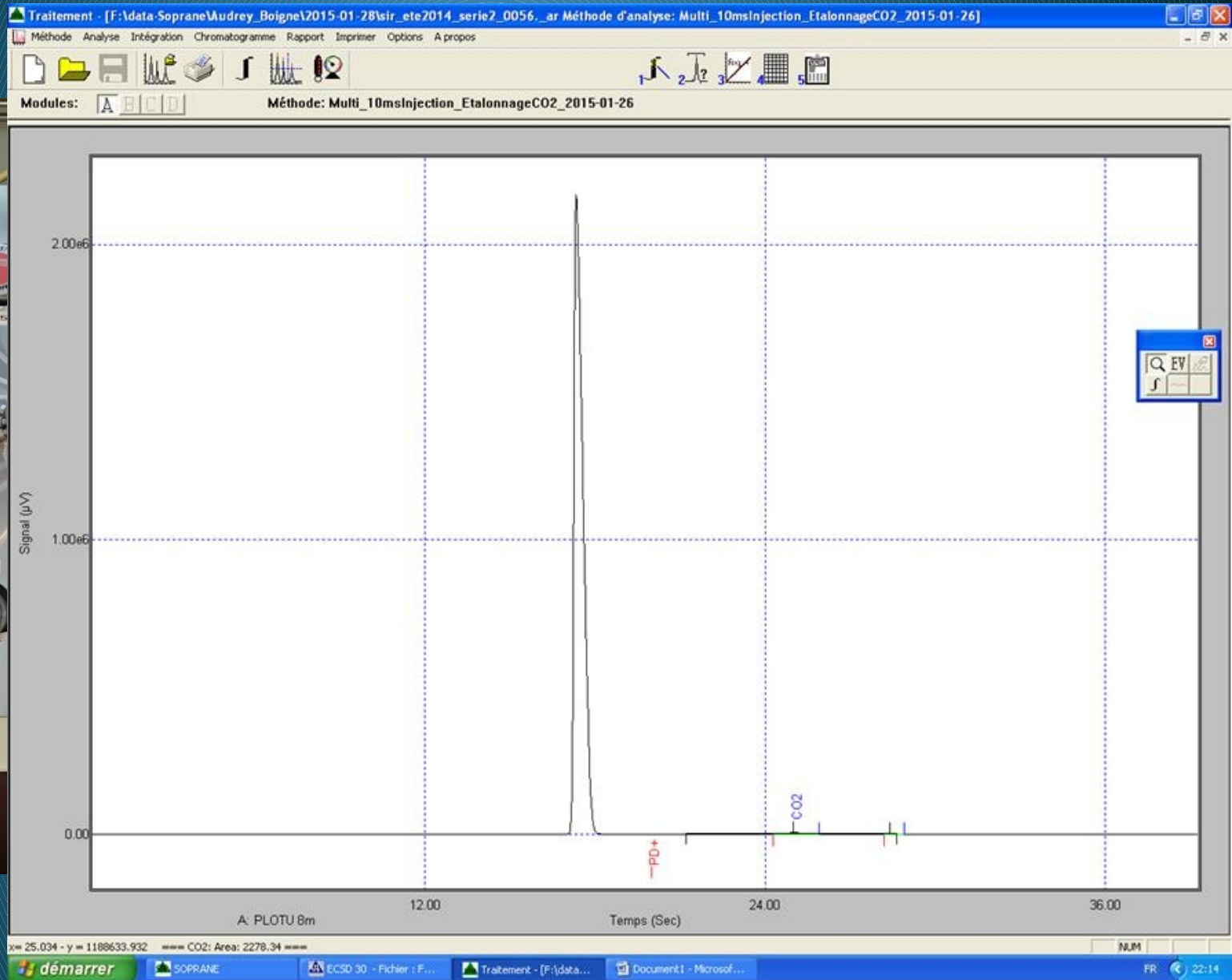


10µL de gaz
Analyse < 2min

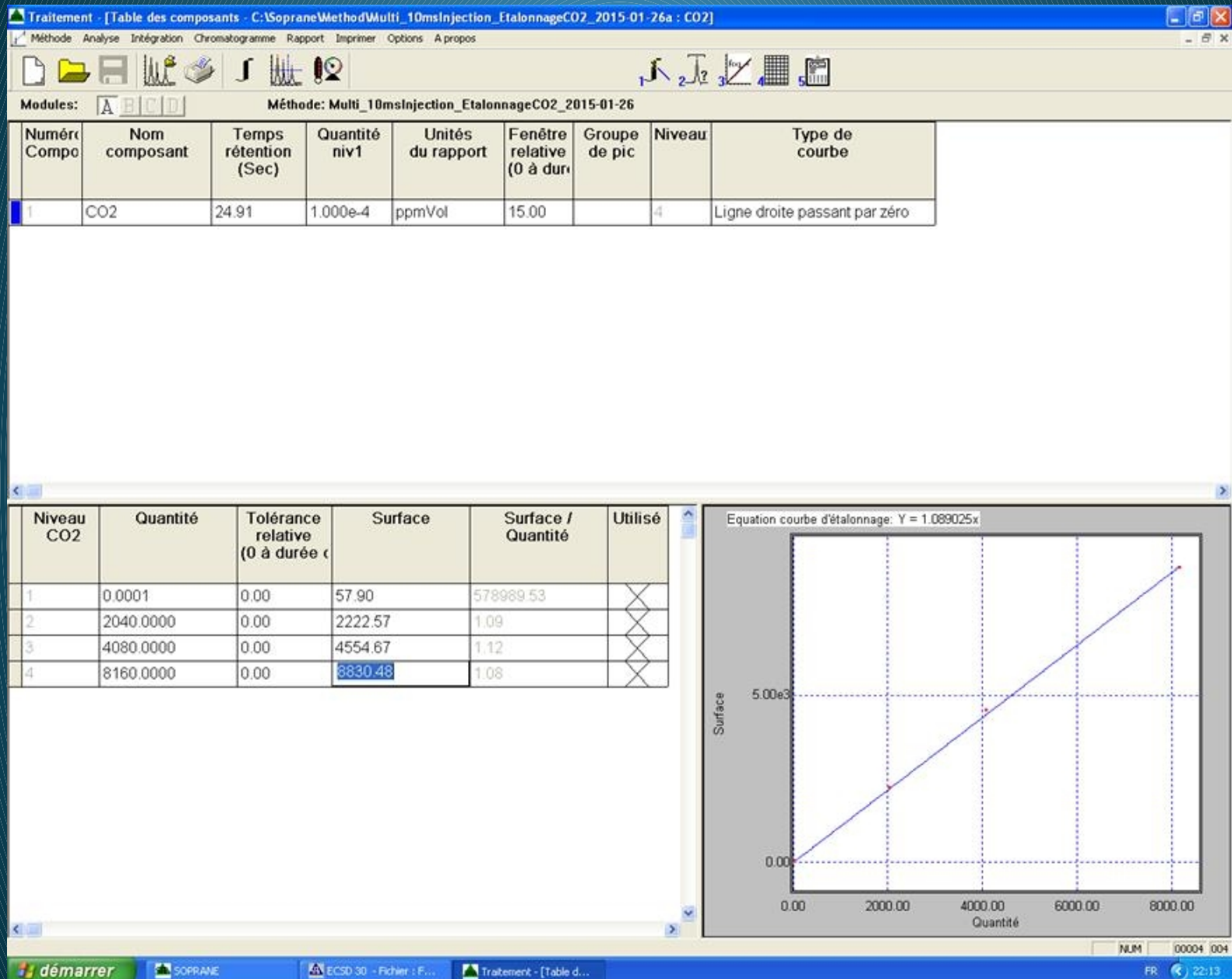
Micro-catharomètre En pratique



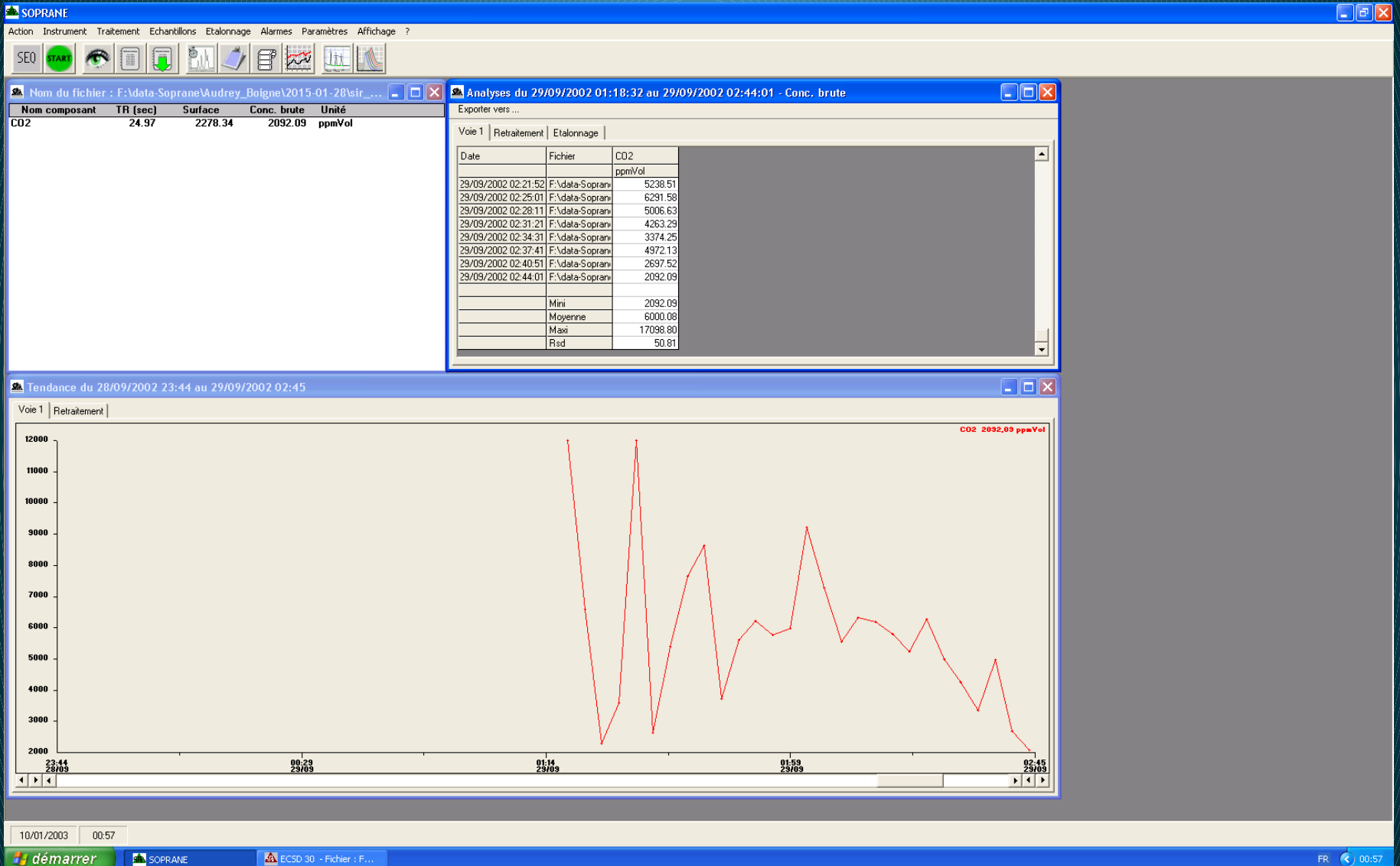
Micro-catharomètre En pratique



Micro-catharomètre En pratique



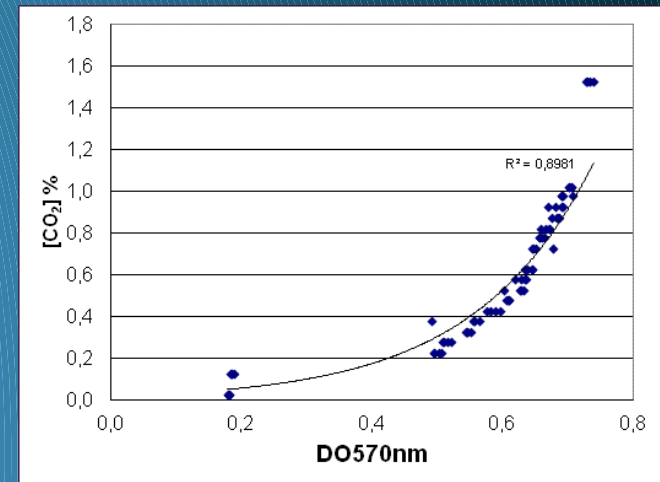
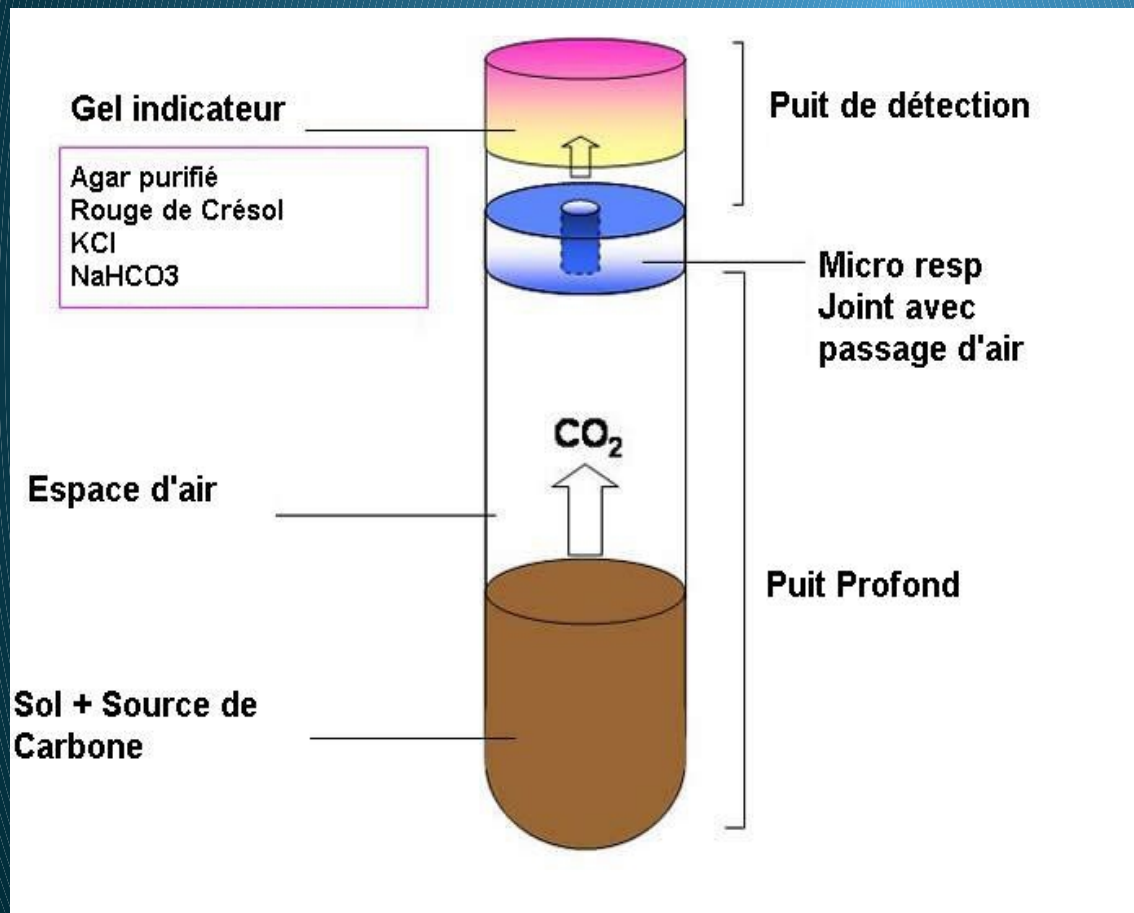
Micro-catharomètre En pratique



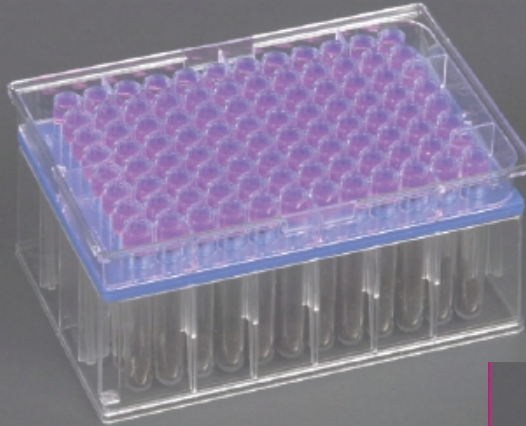
Respiration potentielle

MicroResp™

Caractérisation de la diversité métabolique
des communautés microbiennes

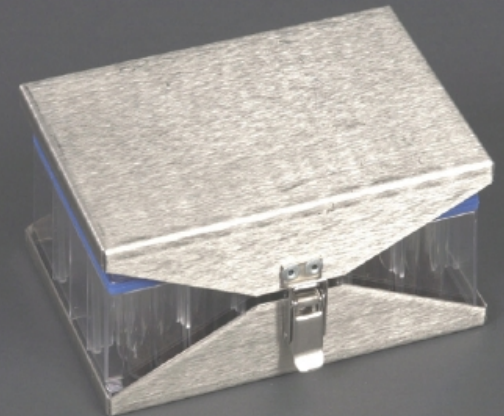


MicroResp™ En pratique



Gel indicateur Agar :
Rouge de Crésol
Chlorure de Potassium (KCl)
Bicarbonate de Sodium (NaHCO_3)

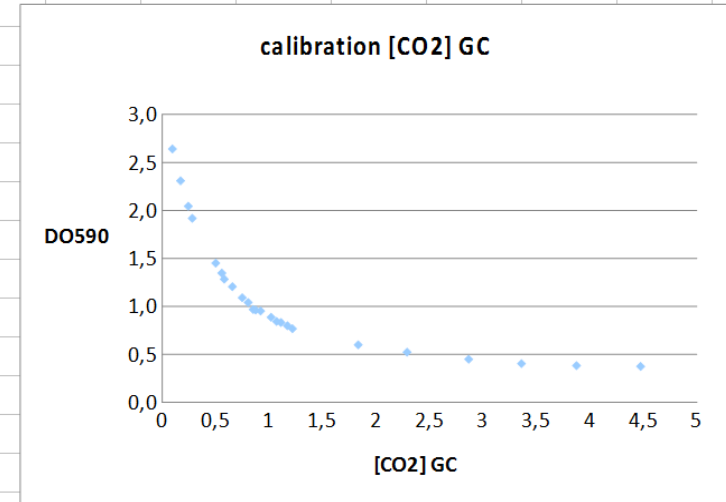
Le rouge Crésol change de couleur (rose au jaune) avec le changement de pH en présence de CO_2 .
$$\text{CO}_2 (\text{gaz}) + \text{H}_2\text{O} + \text{HCO}_3^- \leftrightarrow 2\text{CO}_3^{2-} + 3 \text{H}^+$$



MicroResp™

Interprétation des résultats

H20																	
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q
1	puits	Ech. (%CO2)	[CO2] μGC %	[CO2] μGC % corr CO ₂ amb	DO ₅₉₀ norm	[CO2] calc											
2	A1-D1	0	0,0955	0,00	2,64	0,000											
3	E1-H1	0,1	0,1714	0,08	2,31	0,000											
4	A2-D2	0,2	0,2439	0,15	2,04	0,000											
5	E2-H2	0,3	0,2808	0,19	1,92	0,000											
6	A3-D3	0,35	0,5008	0,41	1,45	0,000											
7	E3-H3	0,4	0,5576	0,46	1,35	0,000											
8	A4-D4	0,45	0,5804	0,48	1,28	0,000											
9	E4-H4	0,5	0,6565	0,56	1,21	0,000											
10	A5-D5	0,55	0,7483	0,65	1,09	0,000											
11	E5-H5	0,6	0,8043	0,71	1,04	0,000											
12	A6-D6	0,65	0,8507	0,76	0,97	0,000											
13	E6-H6	0,7	0,8744	0,78	0,96	0,000											
14	A7-D7	0,75	0,92	0,82	0,95	0,000											
15	E7-H7	0,8	1,0184	0,92	0,89	0,000											
16	A8-D8	0,85	1,0693	0,97	0,84	0,000											
17	E8-H8	0,9	1,11	1,01	0,83	0,000											
18	A9-D9	0,95	1,1711	1,08	0,80	0,000											
19	E9-H9	1	1,2179	1,12	0,77	0,000											
20	A10-D10	1,5	1,833	1,74	0,60	0,000											
21	E10-H10	2	2,2907	2,20	0,52	0,000											



$$[CO2] \mu GC \% = -0,154 - 4,142 / (1 - 5,219 * DO590)$$

$$[CO2] \% = -0,083 - 0,703 / (1 - (7,556 * DO))$$

MicroResp™ Pour aller plus loin

Si la respiration est mesurée en présence de divers substrats carbonés, on mesure une SIR (Substrate Induced Respiration) exprimée en μ gramme de substrat carboné par gramme de sol et par heure.

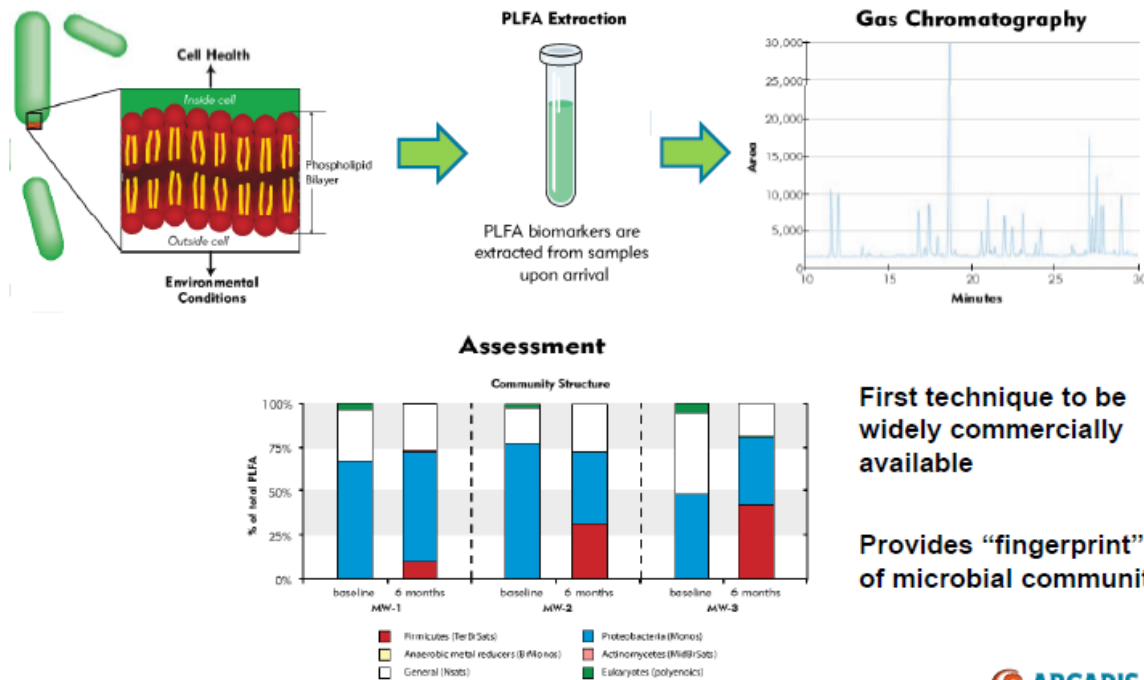
Une analyse MicroResp qui permet de cibler l'activité fongique en ajoutant aux échantillons un inhibiteur bactérien = **FungiResp**

Ben Sassi et al. 2012, Ecological Indicators

L'inverse peut être envisagé avec un inhibiteur fongique qui permet d'accéder à l'activité bactérienne de l'échantillon. Plus délicat dans le choix de l'inhibiteur.

PhosphoLipid Fatty Acids – PLFA

Caractérisation de la structure des communautés microbiennes



Constituants principaux des membranes cellulaires

Dégradation rapide à la mort de la cellule

Spécifiques d'une communauté

First technique to be widely commercially available

Provides "fingerprint" of microbial community

PLFA En pratique

10g de sol 1g de litière	Extraction des lipides par tampon Phosphate / Chloroforme / Méthanol
Phase organique	Séparation lipides neutres / glycolipides / phospholipides sur colonne de gel de silice
Fraction Phospholipides	Trans-estérification des acides gras en esters de méthyle
Analyse GC	Sépare, identifie et quantifie les esters préparés, caractéristiques de la communauté de micro-organismes de l'échantillon.

L'analyse de communautés microbiennes peut également se faire par étude des profils d'acides gras totaux (méthode dite « MIDI »). Cette méthode prend en compte tous les acides gras de l'échantillon, y compris ceux d'origine végétale ou d'organismes morts.

La méthode PLFA est plus pertinente pour l'analyse de la structure de communauté microbienne des sols ou litières.

Ces analyses se font à la PACE, plateforme du LabEx CeMEB. Les locaux sont situés au CEFE (1^{er} étage aile A).

Respiration ~1,50€ pour 10 échantillons (par série de 30 au μ catha et 96 en MicroResp)
PLFA ~20€ par échantillon



Contact : PFpace@cefe.cnrs.fr

Réf : Bruno Buatois

<http://www.cefe.cnrs.fr>

Nicolas Barthes – PACE, CeMEB
Ammar Shihan – CEFE

Impact de la diversité végétale et l'exclusion de pluie sur les activités microbiennes du sol

...(Exemple)...

Ammar SHIHAN
12-05-2015

Directeur de thèse: Co- encadrant :
Stephan HATTENSCHWILER Nathalie FLOMIN



a) Matériel et Méthode :

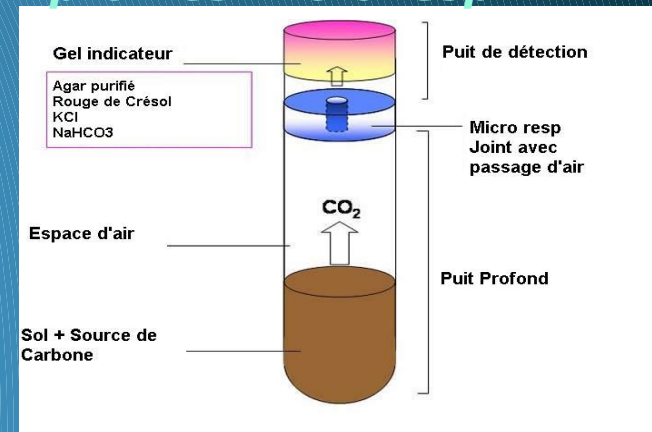
□ En collaboration avec une expérimentation de l'IMBE (décembre 2011):

- T1=1 an (décembre 2012) au total 368.
- T2=2 ans (décembre 2013) au total 276.

□ Préparation des échantillons prélevés :



Analyse de la diversité fonctionnelle microbienne : profiles MicroResp™ :



Principe du dosage de CO₂
Exprimé en μg de C- CO₂/g de sol sec/h

Effet Non-additif = $(O - C)/C$

O: la valeur observée,
C: la valeur calculée

(Wardle et al 1997)

b) Résultats :

i) Effets Non-additifs de mélange de litière sur les CLPPs:

Tableau 1: Results of ANOVA to test for the effects of litter mixture identity and rain exclusion treatment on (Relative mixture effects= effet non-additif) of soil microbial parameters, after 1 (y1) and 2 (y2) years. **F values with statistical significance level** ($\dagger < 0.10$, $* < 0.05$, $** < 0.01$, $*** < 0.001$).

(-): means that treatment effects are often antagonist

Microbial parameter	Rain exclusion (RE)	Litter mixture identity (Id)
Basal respiration	y1: 18.280*** (-) y2: 8.106** (-)	NS
Caffeic acid	y1: NS y2: 8.846** (-)	y1: 3.904*** y2: 4.277***
Vanillic acid	y1: 8.306** (-) y2: NS	y1: NS y2: 2.587*
Xylane	NS	y1: NS y2: 2.608*
Cellulose	y1: 6.278* (-) y2: 3.176† (-)	y1: NS y2: 2.881**
Asparagine	y1: 6.152* (-) y2: NS	y1: NS y2: 2.371*
Serine	y1: NS y2: 4.806* (-)	y1: NS y2: 2.600*
Lysine	y1: 5.118* (-) y2: 6.640* (-)	NS
Glycine	y1: NS y2: 20.143*** (-)	y1: 2.199* y2: NS
Glutamine	y1: 3.119† (-) y2: 5.521* (-)	NS
Oxalic acid	NS	y1: NS y2: 2.512*
Uric acid	y1: 11.107** (-) y2: 3.482† (-)	y1: NS y2: 2.483*
Malic acid	y1: 12.195*** (-) y2: NS	y1: 2.346* y2: 1.754†
Glucose	y1: 2.864† (-) y2: NS	y1: NS y2: 3.026***
N-acetyl glucosamine	y1: 7.165** (-) y2: 9.160** (-)	NS
Syringic acide	NS	y1: 1.724† y2: 1.899†
Summary	y1: 10 y2: 9	y1: 4 y2: 11

b) Résultats :

ii) Effet de traitement sécheresse sur l'effets *Non-additifs* de mélange de litière:

1 L'importance de la diversité végétale pour expliquer la réponse de la communauté microbienne du sol à une baisse des précipitations.

2

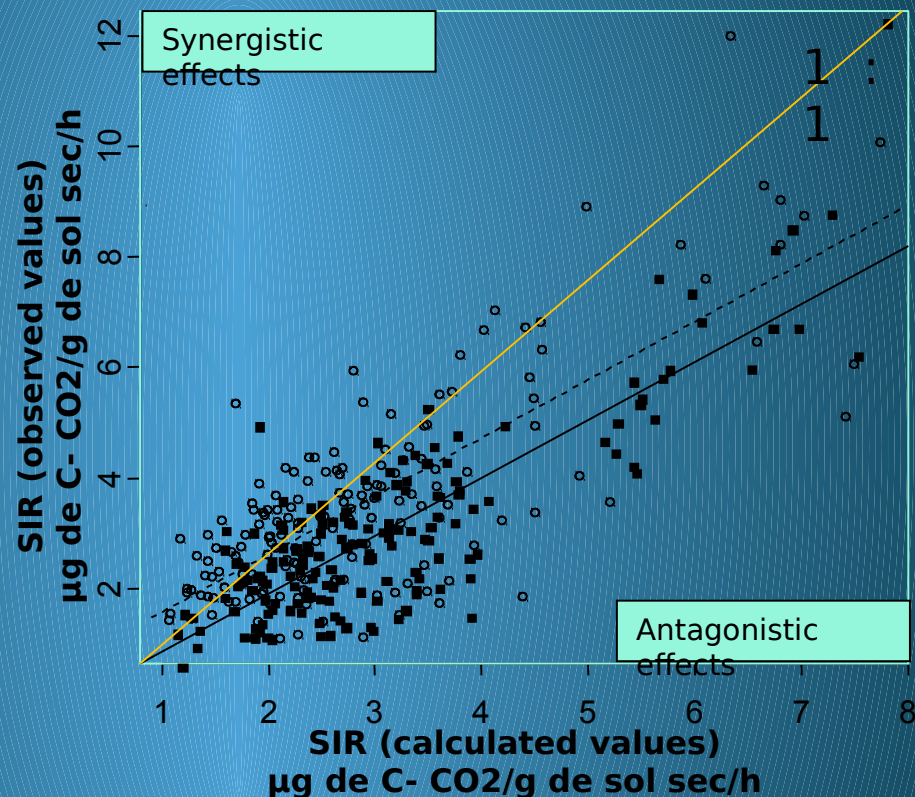


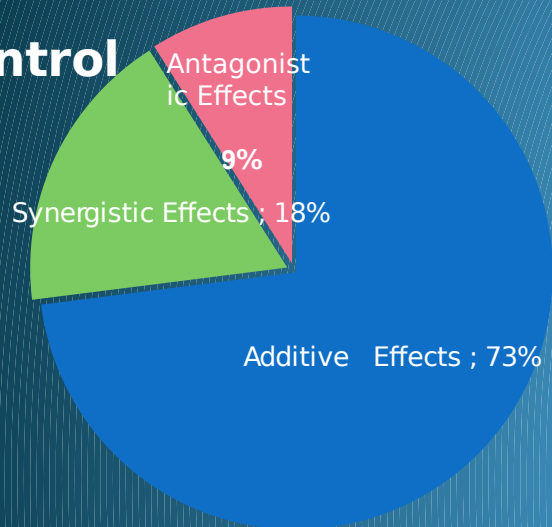
Figure 1: The observed values of SIR as a function of expected values (calculated on the basis of the average values based on single-species separately) for all treatments (litter diversity, species richness, exclusion rain) and for all substrates (T1=1 years). The orangeline defines identical that observed and expected values are similar. Empty circle: control treatment. Black points: exclusion treatment. Continuous line: exclusion treatment. Dotted line: control treatment.

c) Résultats :

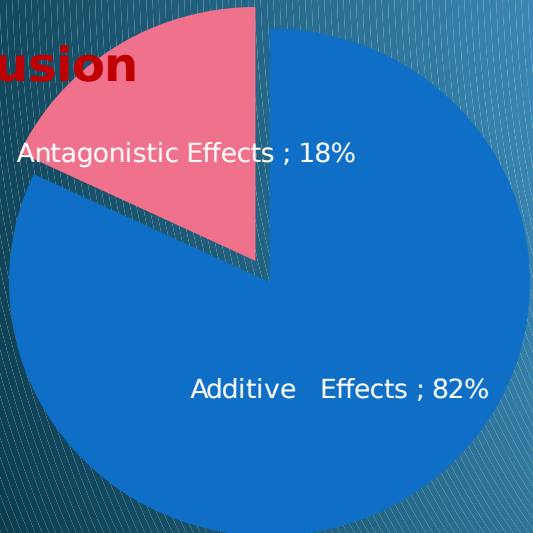
ii) Effet de l'identité de mélange de litière sur l'effets *Non-additifs* de mélange de litière:

T1 = 1 an

Control

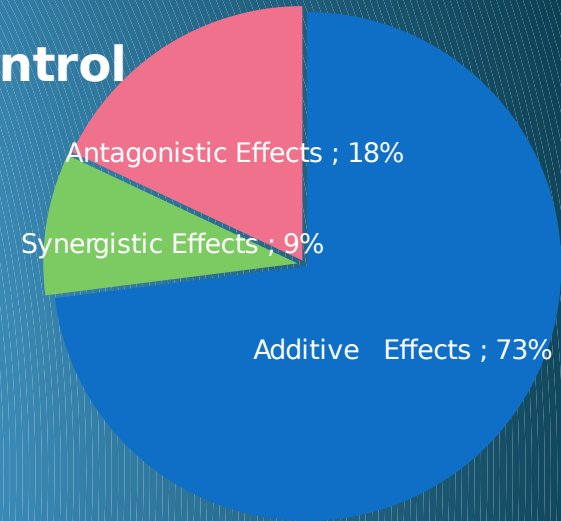


Exclusion

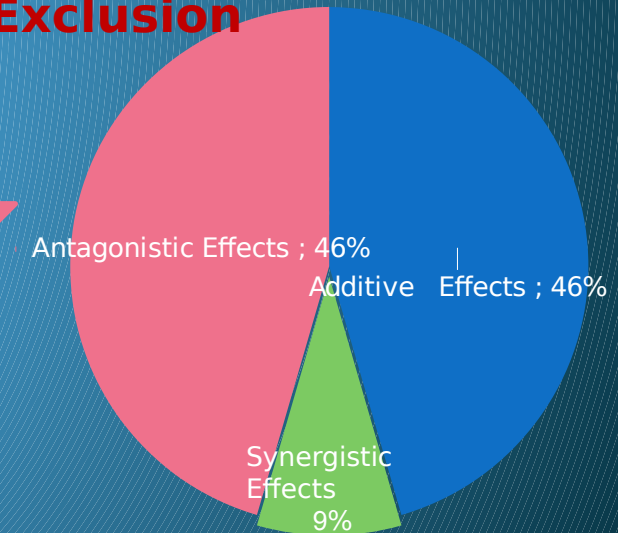


T2 = 2 ans

Control



Exclusion



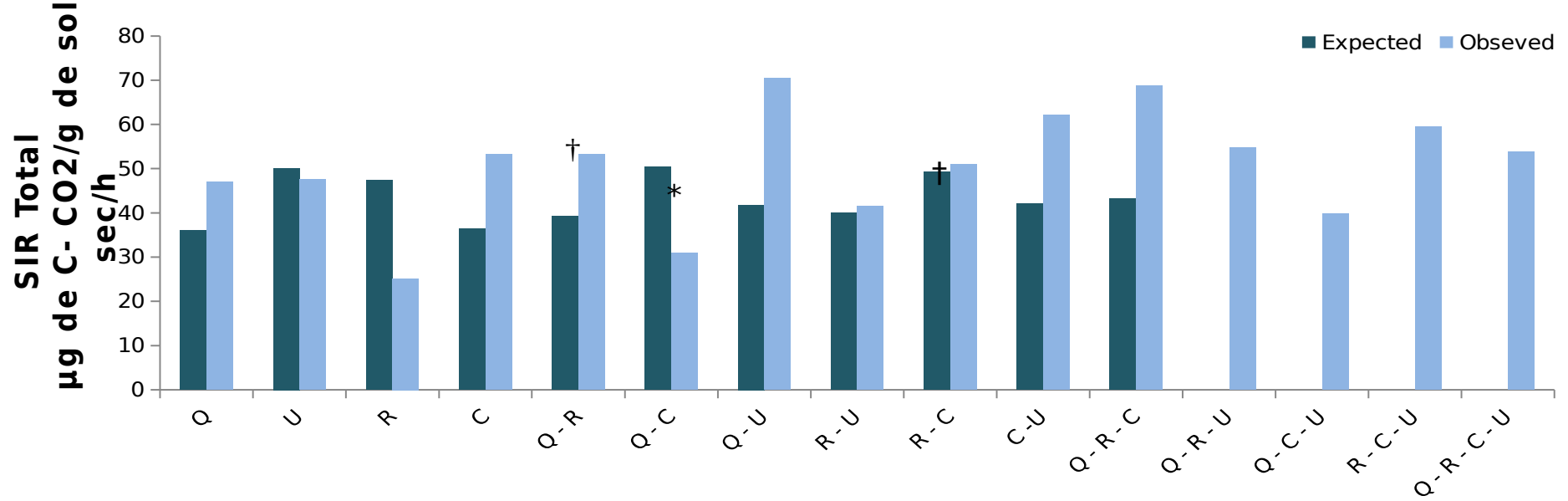


MERCI

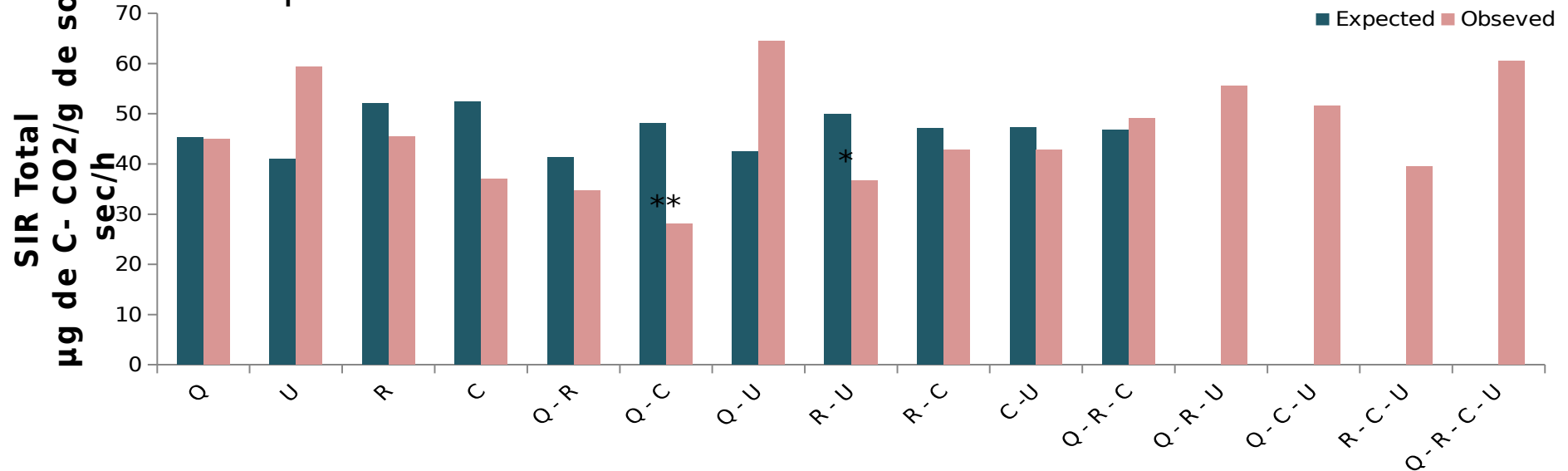


CLPPs after 1 year

Control Plots

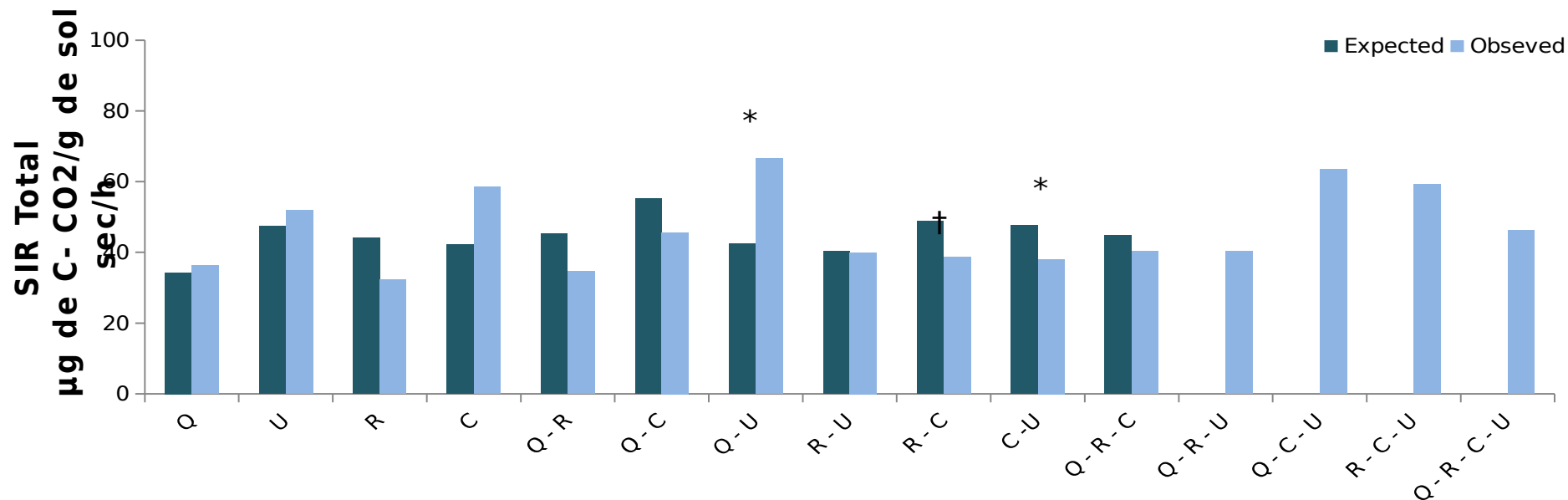


Rain Exclusion plots

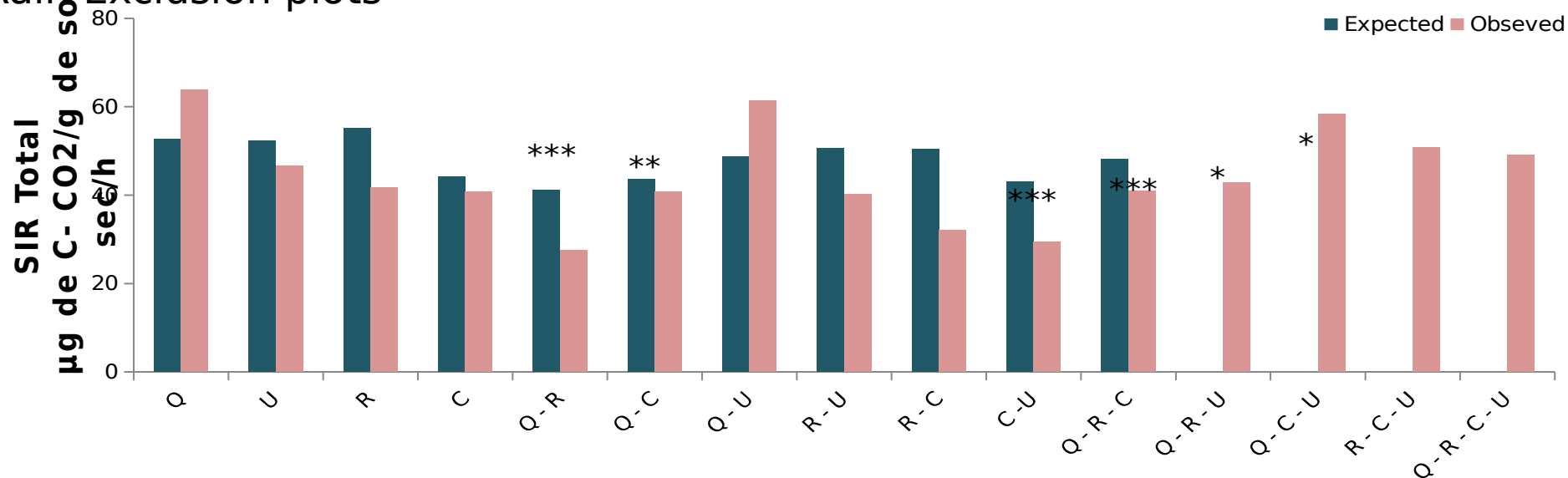


CLPPs after 2 years

Control Plots



Rain Exclusion plots



c) Résultats préliminaires:

ii) Effet de la composition de mélange de litière sur l'effets Non-additifs de mélange:

Tableau 4: Summary table explaining the type of interaction between the different species on the potential respiration (SIR) after one year and two years of incubation depending on rain exclusion treatment (obtained by comparing the measured values of the ΣSIR_{ij} and the expected ones for the 11 different mixtures of litters)

	Treatment	Additive Effects	Synergistic Effects	Antagonistic Effects
T = 1 year	Control	73%	18%	9%
	Exclusion	82%	0%	18%
T = 2 years	Control	73%	9%	18%
	Exclusion	45.5%	9%	45.5%

Combinaisons des placette	abréviation	répétition	Traitement	
<i>Quercus coccifera</i>	QC	6	3 control	3 exclusion
<i>Ulex parviflorus</i>	UP	6	3 control	3 exclusion
<i>Rosmarinus officinalis</i>	RO	6	3 control	3 exclusion
<i>Cistus albidus</i>	CA	6	3 control	3 exclusion
<i>Q. coccifera</i> & <i>R.officinalis</i>	QC, RO	6	3 control	3 exclusion
<i>Q. coccifera</i> & <i>C. albidus</i>	QC, CA	6	3 control	3 exclusion
<i>Q. coccifera</i> & <i>U. parviflorus</i>	QC, UP	6	3 control	3 exclusion
<i>R.officinalis</i> & <i>U. parviflorus</i>	RO, UP	6	3 control	3 exclusion
<i>R.officinalis</i> & <i>C. albidus</i>	RO, CA	6	3 control	3 exclusion
<i>C. albidus</i> & <i>U. parviflorus</i>	CA,UP	6	3 control	3 exclusion
<i>Q. coccifera</i> & <i>R.officinalis</i> & <i>C. albidus</i>	QC, RO, CA	6	3 control	3 exclusion
<i>Q. coccifera</i> & <i>R.officinalis</i> & <i>U. parviflorus</i>	QC, RO, UP	6	3 control	3 exclusion
<i>Q. coccifera</i> & <i>C. albidus</i> & <i>U. parviflorus</i>	QC, CA, UP	6	3 control	3 exclusion
<i>R.officinalis</i> & <i>C. albidus</i> & <i>U. parviflorus</i>	RO, CA, UP	6	3 control	3 exclusion
<i>Q. coccifera</i> & <i>R.officinalis</i> & <i>C. albidus</i> & <i>U. parviflorus</i>	QC, RO, CA, UP	8	4 control	4 exclusion

three carbohydrates	one amine	five amino acids	three carboxylic acids	three phenolic acids
D-glucose, xylan, cellulose	N-acetyl- glucosamine	L- asparagine, L- glutamine, L-lysine, L-serine, L-glycine	malic acid, oxalic acid, uric acid	Caffeic acid syringic acid, vanillic acid