

## Soutenance de thèse de Lucie Zinger

UFR de Biologie, Amphi A

Le 10 Juillet 2009

# Variations spatio-temporelles de la microflore des sols alpins

Jury composé de:

**Dr. Lionel Ranjard, Rapporteur**

**Dr. Philippe Vandenkoornhuysse, Rapporteur**

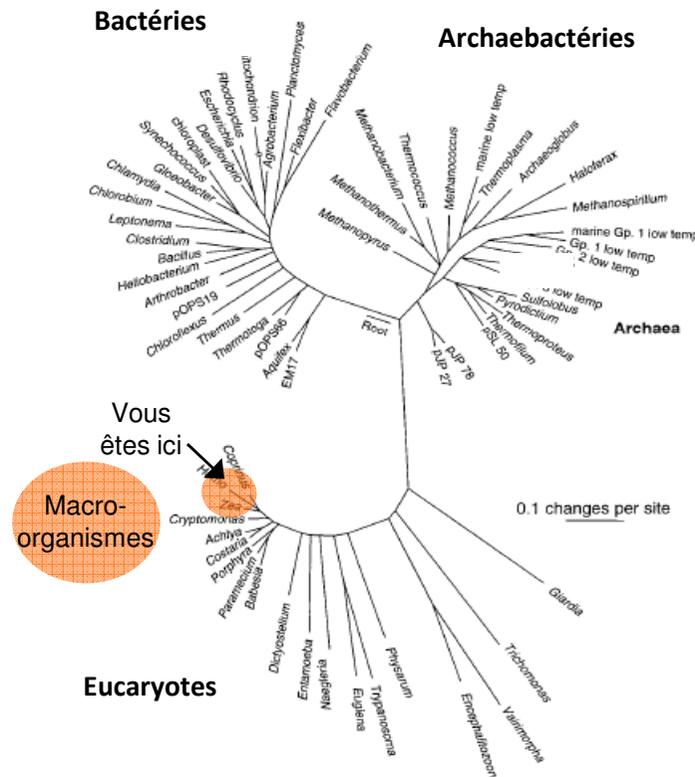
**Dr. Jean-Jacques Brun, Examineur**

**Dr. Philippe Normand, Examineur**

**Dr. Christiane Gallet, Co-directrice de thèse**

**Dr. Roberto Geremia, Directeur de thèse**

- > 50% de la biomasse terrestre (Withman, PNAS 1998)
- Grande diversité:
  - Génétique

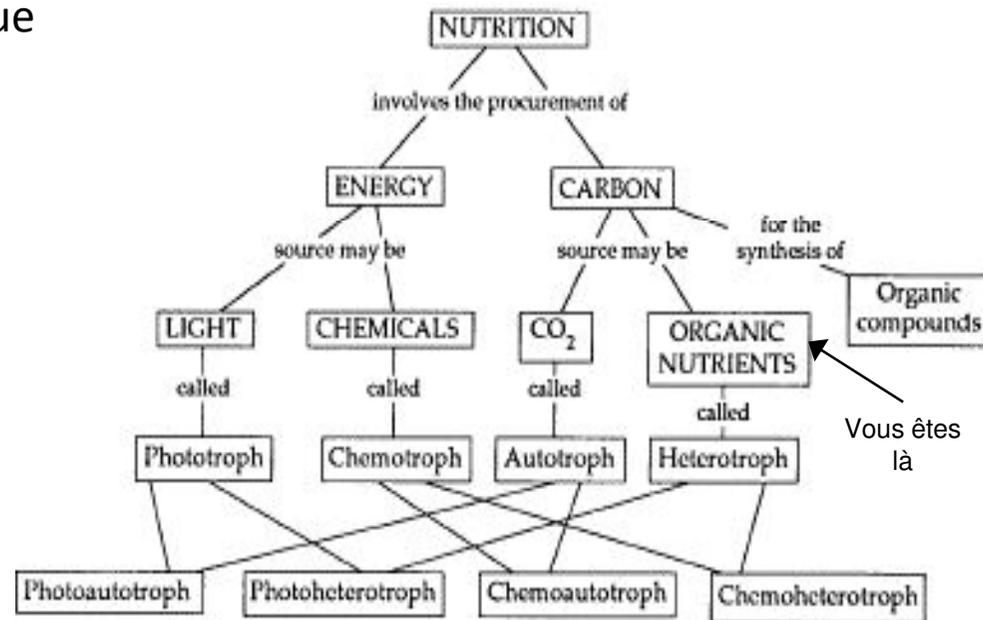


Arbre phylogénétique de la vie basé sur les variations de l'ARN ribosomal (d'après Pace et al. PNAS 1997)

Objet de l'étude  
Les micro-organismes

## Diversité

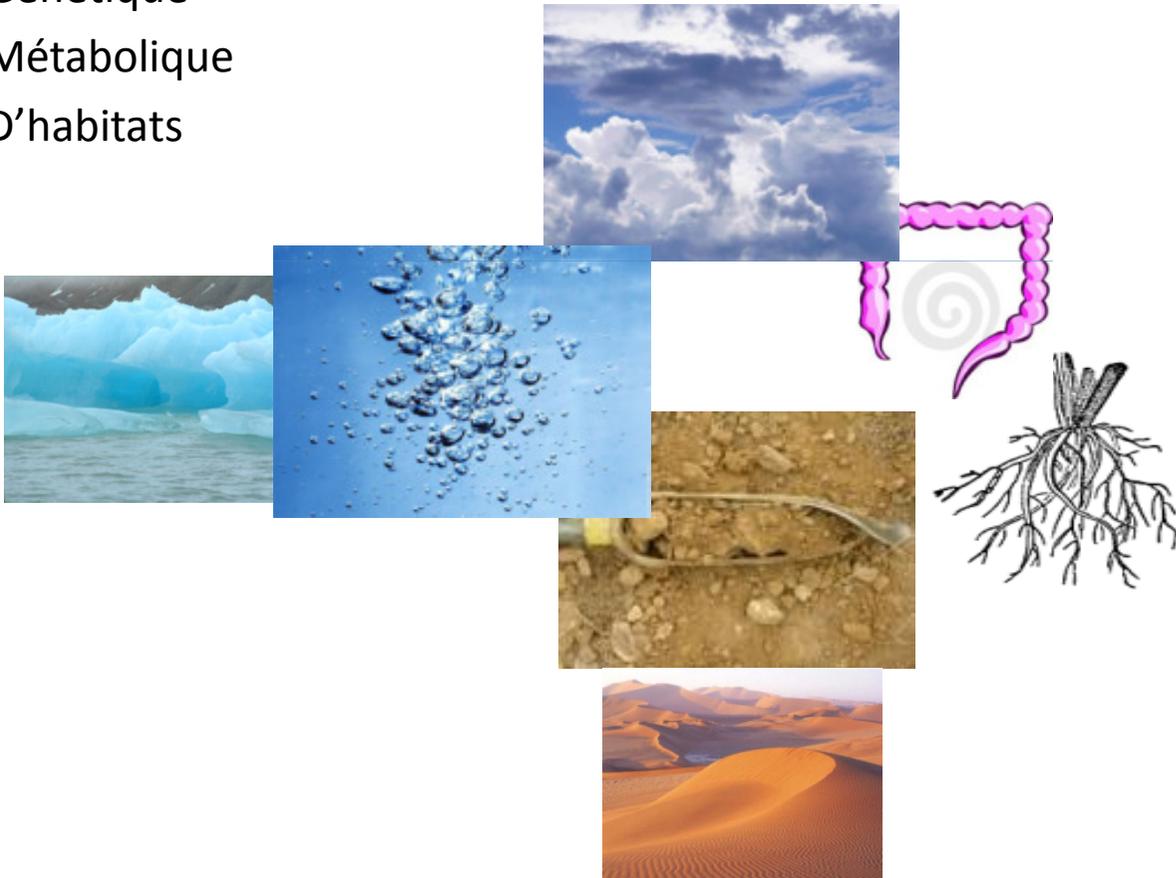
- > 50% de la biomasse terrestre (Withman, PNAS 1998)
- Grande diversité:
  - Génétique
  - Métabolique



# Objet de l'étude Les micro-organismes

## Diversité

- > 50% de la biomasse terrestre (Withman, PNAS 1998)
- Grande diversité:
  - Génétique
  - Métabolique
  - D'habitats



# Objet de l'étude

## Les micro-organismes

### Diversité

- > 50% de la biomasse terrestre (Withman, PNAS 1998)
- Grande diversité:
  - Génétique
  - Métabolique
  - D'habitats
    - Le sol



➔ 1 g de sol : > 10000 espèces microbiennes (Torsvik et al 1990, AEM)

# Objet de l'étude Les micro-organismes

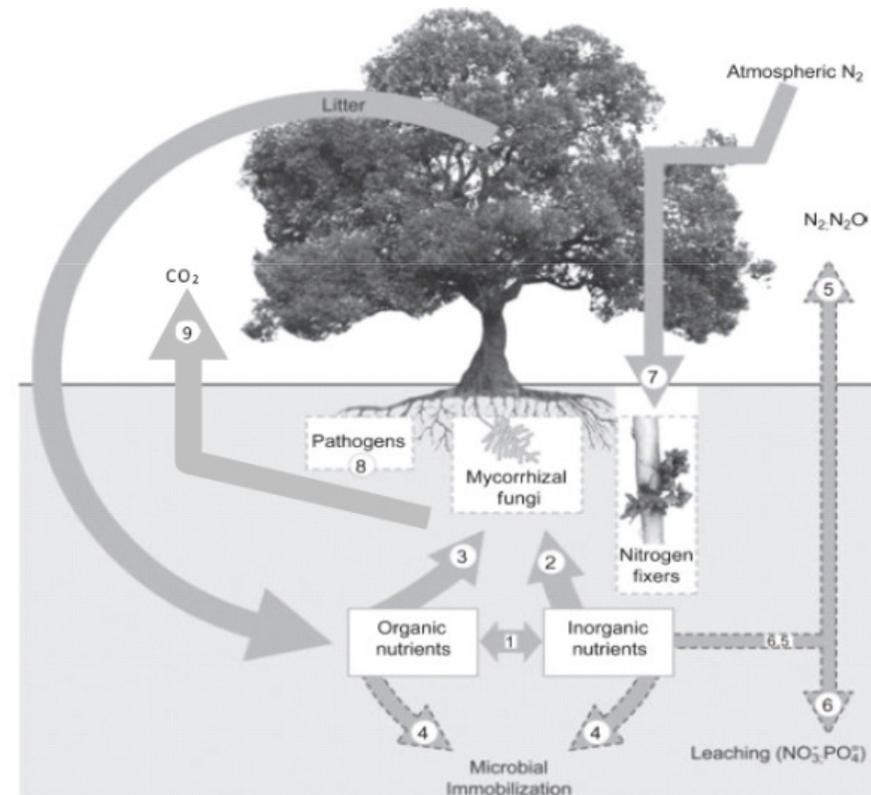
## Le sol: la boîte noire



Répartition d'un mycélium dans les pores du sol  
(CSIRO)

- Forte hétérogénéité à des échelles spatiales variables → difficultés méthodologiques

- Interactions sus/souterraines et éco-services:
  - Recyclage des nutriments
  - Composition atmosphérique
  - Structure et qualité de l'habitat
  - Conservation de la biodiversité
  - Bioremédiation
- Ressource naturelle non renouvelable



Rôle du compartiment microbien dans le sol (van der Heijden et al Ecol Lett 2008)

# Objet de l'étude

## Les communautés microbiennes

### Distribution spatiale, Dynamique

- Préciser les mécanismes impliqués dans la régulation de la biodiversité, des cycles biogéochimiques et dans la résilience des écosystèmes
- Patrons spatio-temporels des communautés

- Distribution spatiale

**"Everything is everywhere, but, the environment selects", Baas-Becking (1939)**

Fort taux de dispersion

Faible taux d'extinction (sporulation, phase dormance)

Fort taux d'adaptation (temps de génération, transferts horizontaux)

- Dynamique des communautés  
Suit la dynamique de l'environnement?

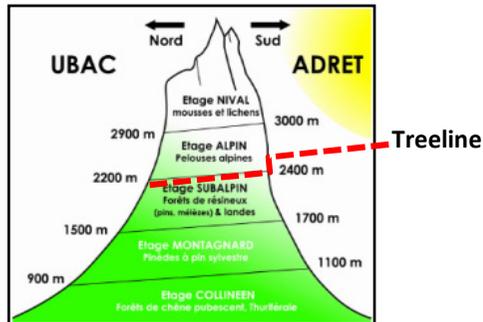
**Quels patrons spatio-temporels pour les micro-organismes, à quelle échelle???**

## Introduction 4/5

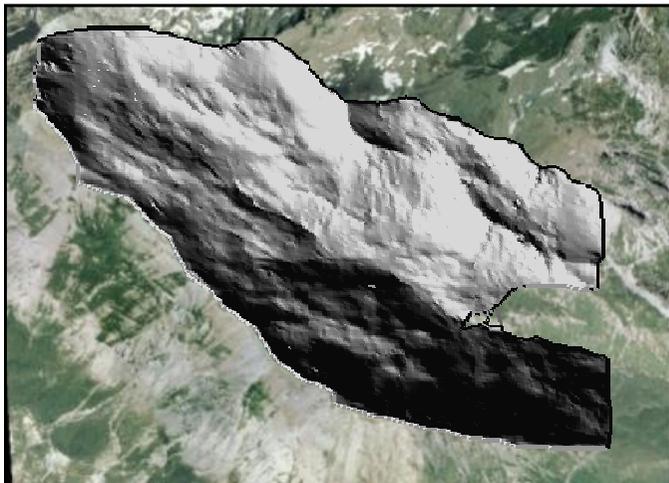
Objectifs  
Méthodes  
Partie I  
Partie II  
Conclusions / Perspectives

# Contexte de l'étude Les écosystèmes alpins

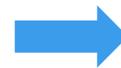
## Étage des contrastes



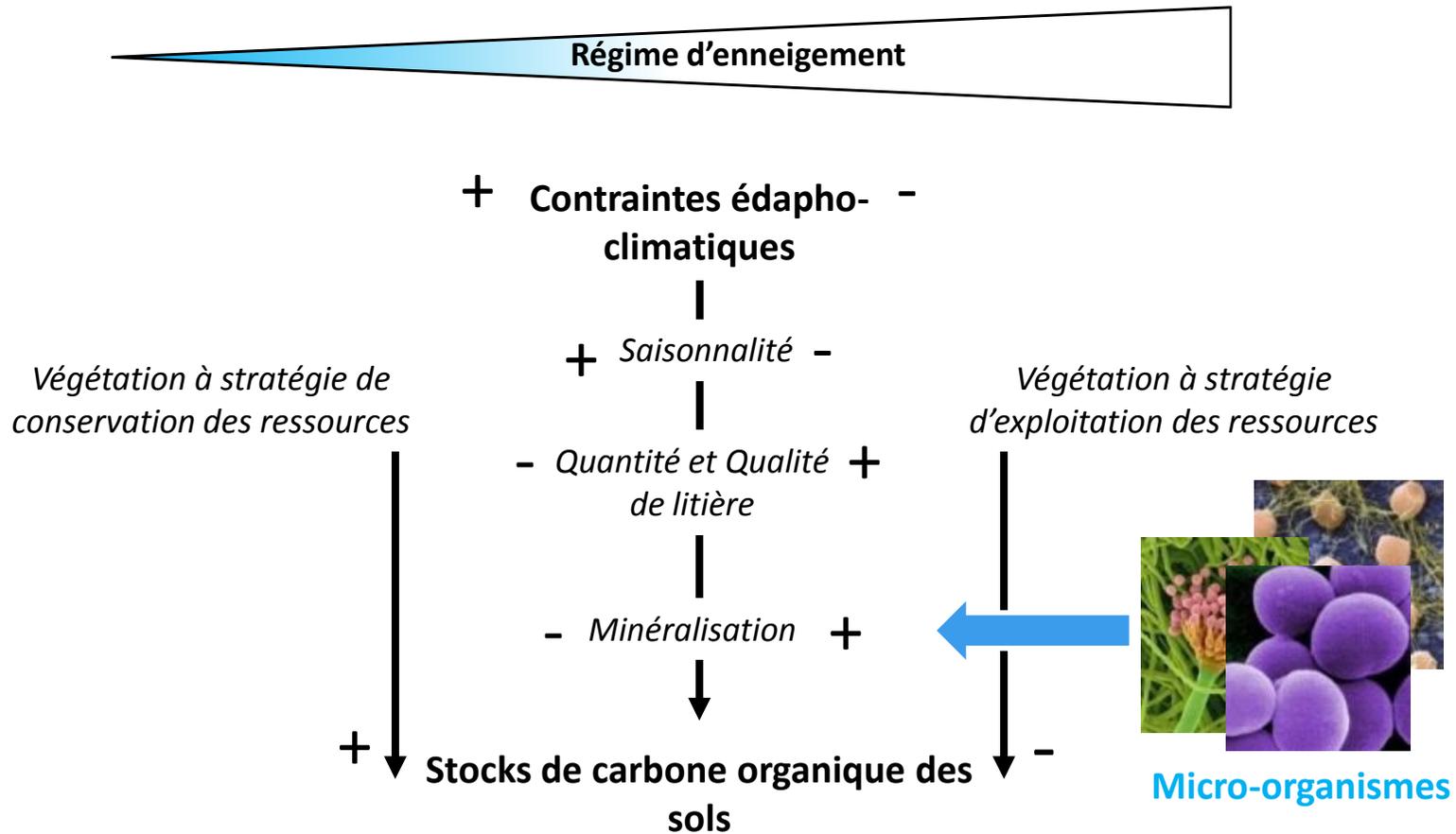
- Saisonnalité marquée
- Hétérogénéité du paysage



Gradients de relief et d'exposition...



...de régimes d'enneigement.





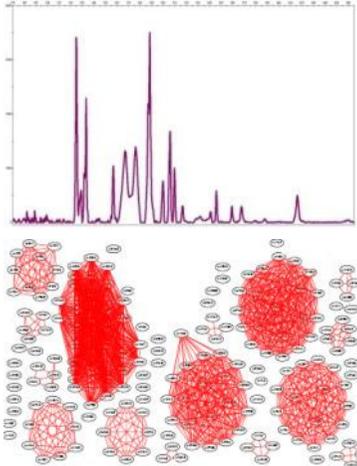
+ Contraintes édapho- -  
climatiques



- Quantité et Qualité +  
de litière



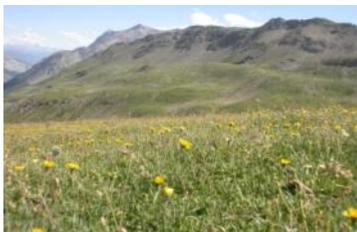
# Objectifs de la thèse



- Optimiser une technique d'empreinte moléculaire (CE-SSCP) pour l'étude des communautés microbiennes
- Développer une méthode d'analyse de jeux de données issus du séquençage



- Déterminer les effets des régimes d'enneigement sur la dynamique et la structure des communautés microbiennes des sols alpins

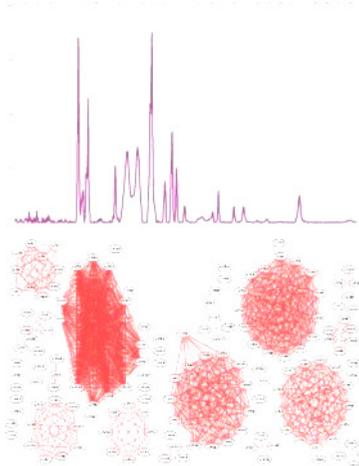


- Caractériser la distribution spatiale des communautés microbiennes des sols alpins, à l'échelle du paysage, en fonction du couvert végétal.

Méthodologie

Ecologie des communautés

# Objectifs de la thèse

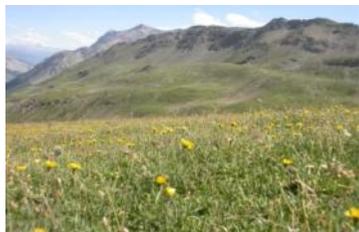


- Optimiser une technique d'empreinte moléculaire (CE-SSCP) pour l'étude des communautés microbiennes
- Développer une méthode d'analyse de jeux de données issus du séquençage

Méthodologie



- Déterminer les effets des régimes d'enneigement sur la dynamique et la structure des communautés microbiennes des sols alpins



- Caractériser la distribution spatiale des communautés microbiennes des sols alpins, à l'échelle du paysage, en fonction du couvert végétal.

Ecologie des  
communautés

# Matériels et Méthodes

## Site d'étude et échantillonnage



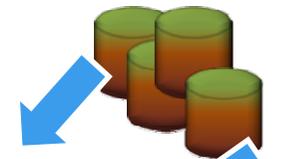
Vallon de Roche Noire, Hautes-Alpes, France. (P. Choler)

- Altitude: ~ 1900 à 2800 m
- Substrat: flysh (schistes argileux calcaires)

3 réplicats de sites (plots 5 x 5 m)

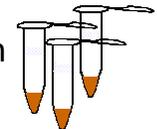


3 à 5 réplicats spatiaux



3 réplicats d'analyses  
physico-chimiques  
(pH, MO)

3 réplicats d'extraction  
d'ADN



1 extrait composite/site



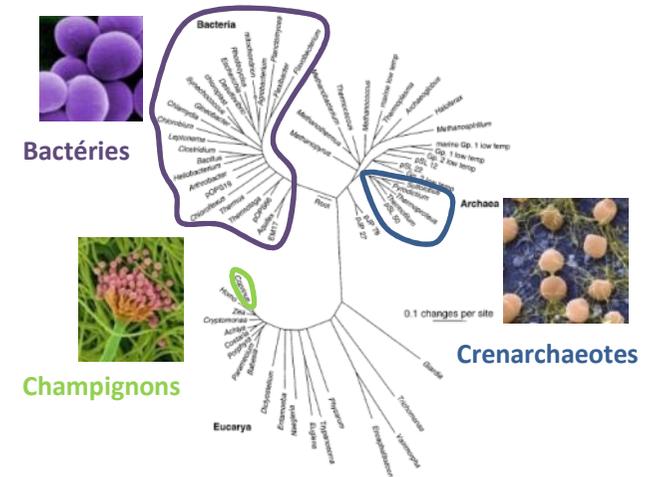
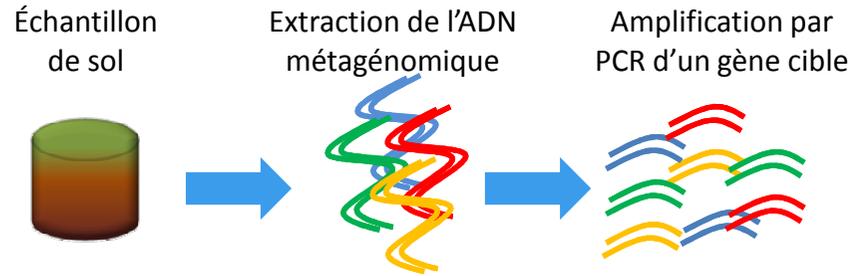
**Analyses  
moléculaires**

**Majorité des micro-organismes non cultivables →**

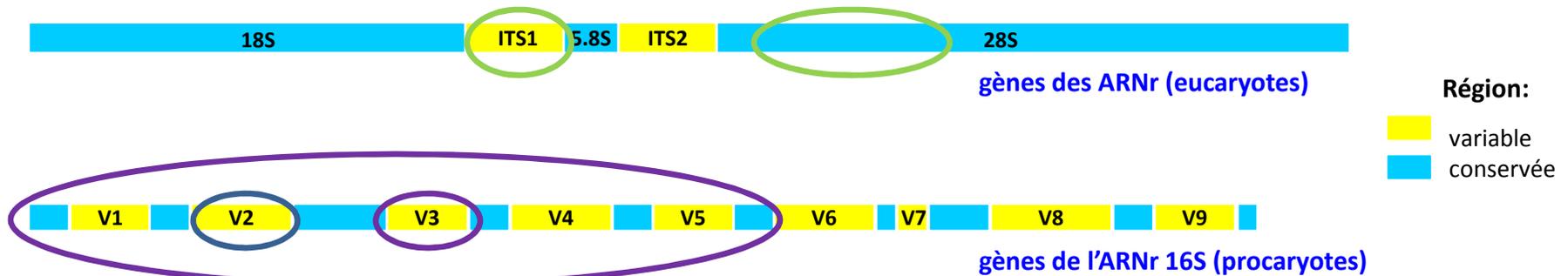
# Matériels et Méthodes

## Techniques utilisées

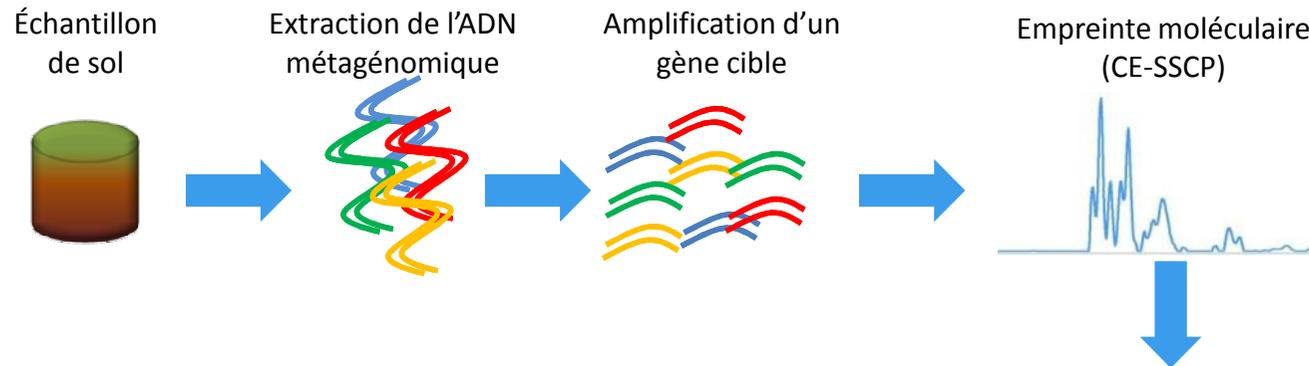
### Marqueurs moléculaires



Marqueurs moléculaires (gènes cibles) utilisés:

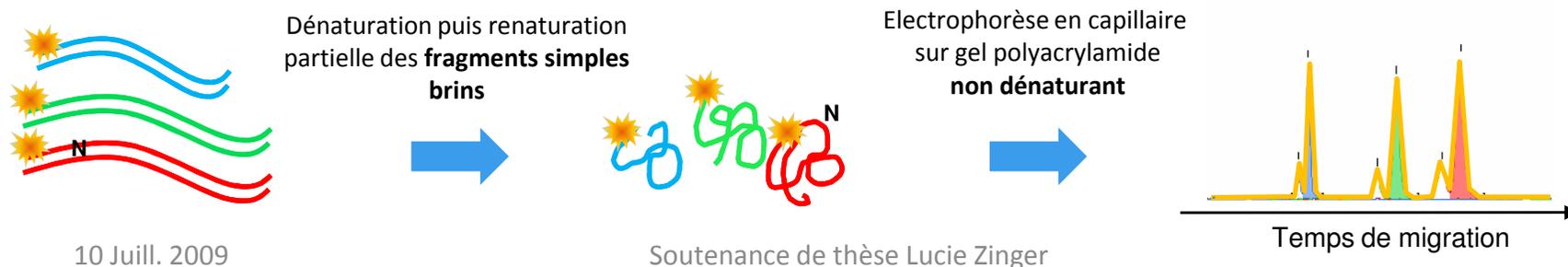


### La CE-SSCP



- Structure des communautés microbiennes
- Etudes comparatives

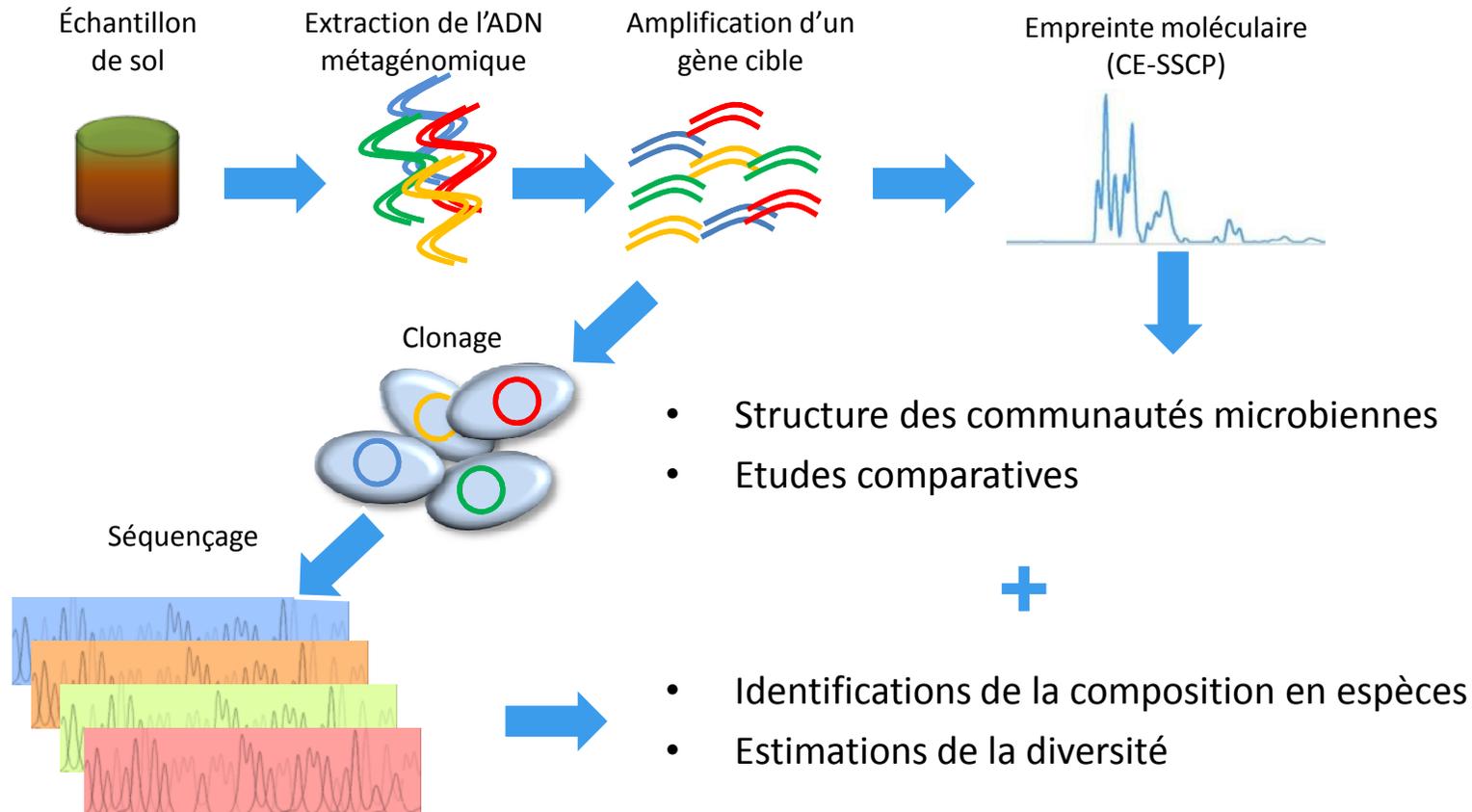
### Méthode d'empreinte moléculaire : CE-SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism)



# Matériels et Méthodes

## Techniques utilisées

### Le clonage séquençage



## Régimes d'enneigement et microflore des sols



**Régimes d'enneigement**

→ **Végétation**

→ **Micro-organismes?**

**Amplitude de la saisonnalité**

→ **Dynamique des communautés?**

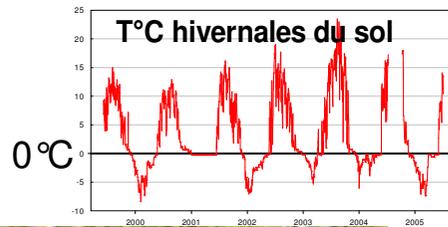
# Effet des régimes d'enneigement: Description de l'étude



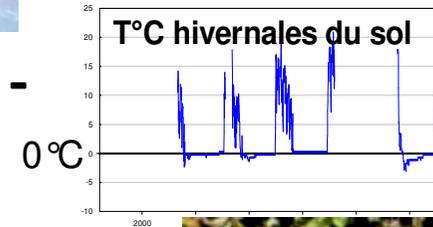
**Early snowmelt sites  
 CRETES**



**Late snowmelt sites  
 COMBES**



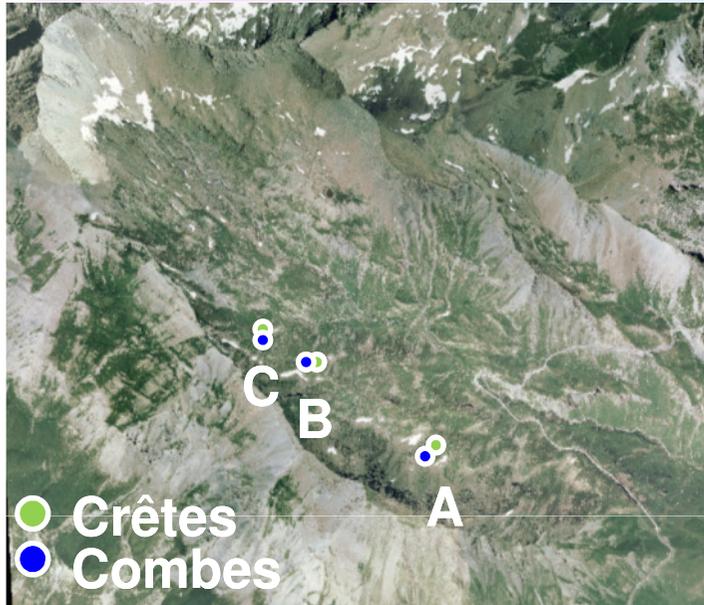
**+ Saisonnalité -**



**- Quantité et Qualité  
 de litière +**



# Effet des régimes d'enneigement: Description de l'étude

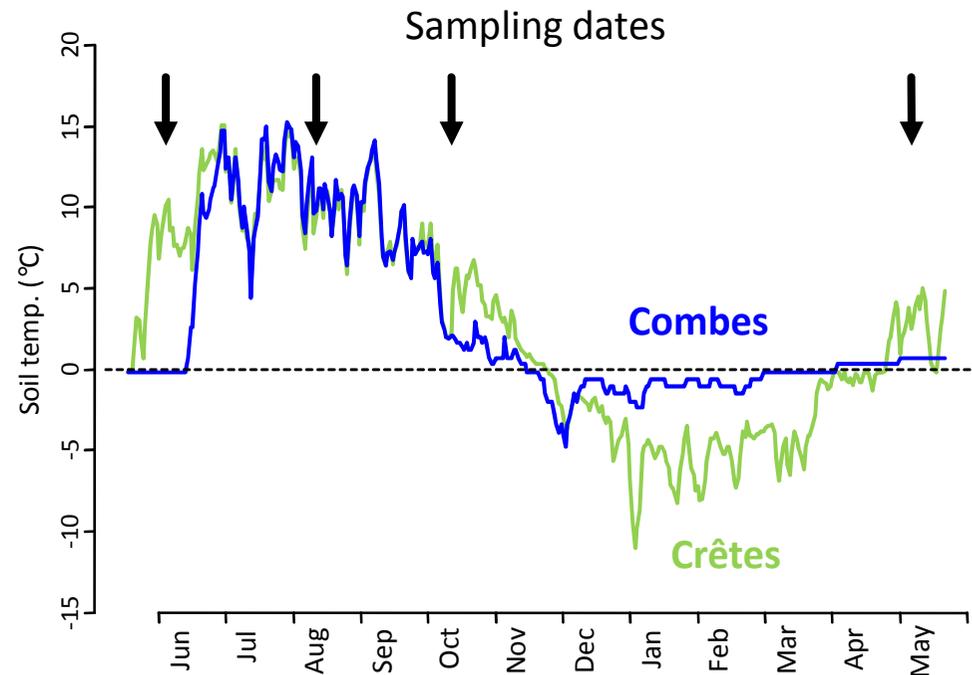


3 sites  
2 années de suivi Site B

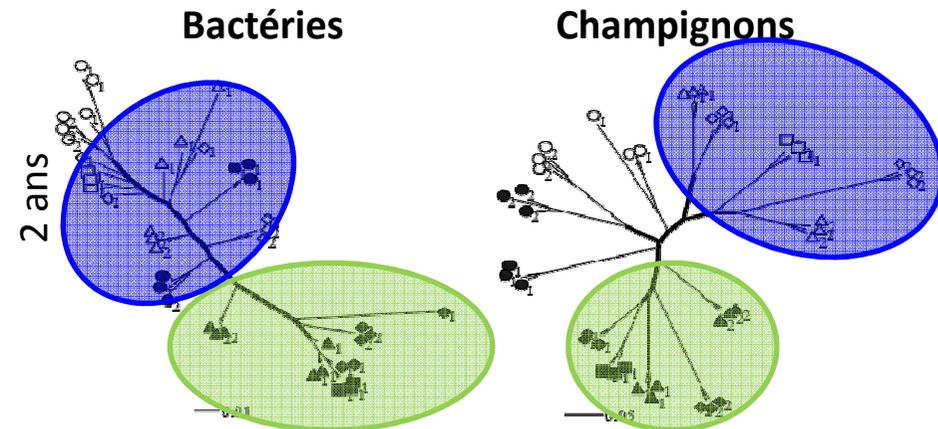
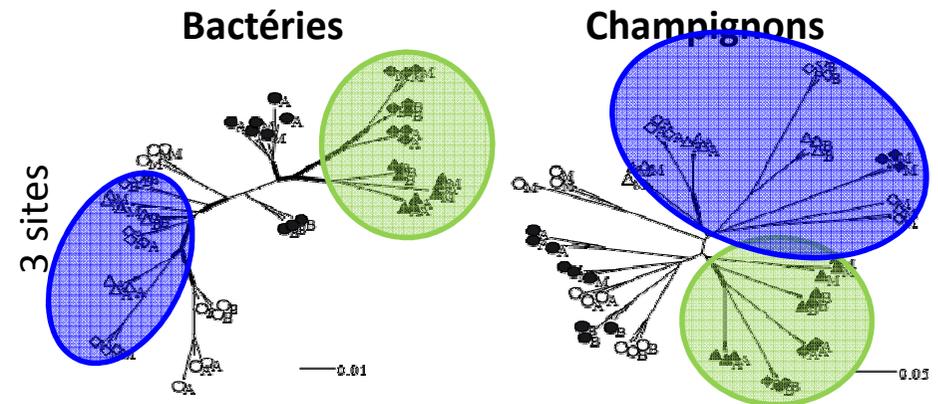
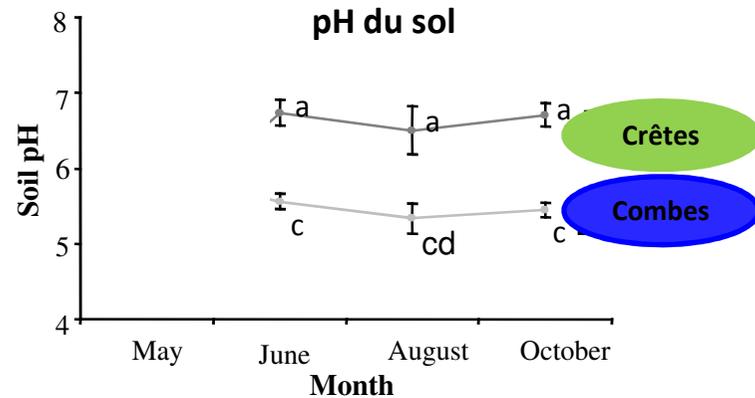


CE-SSCP  
Clonage/séquençage

+ pH du sol

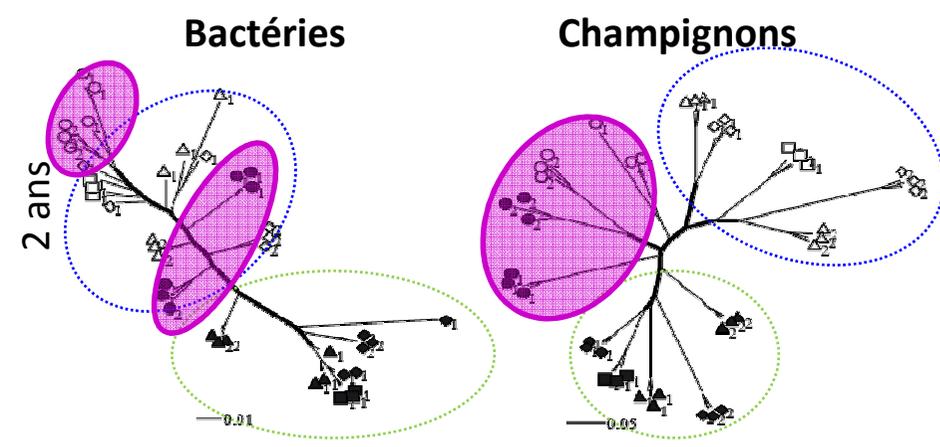
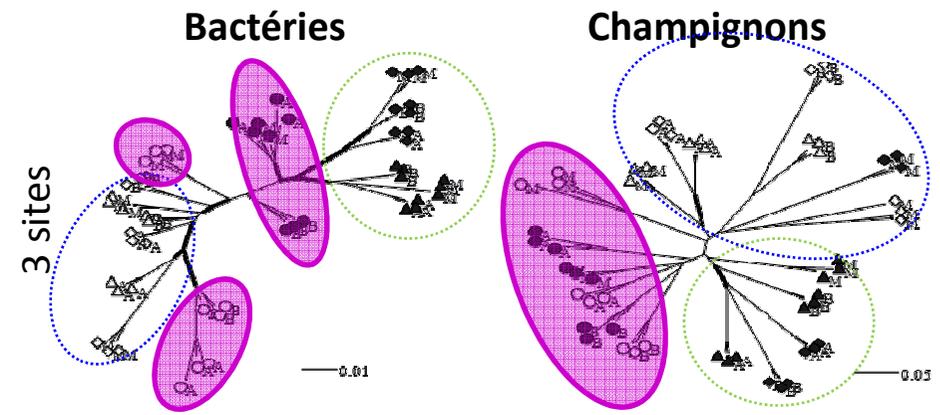
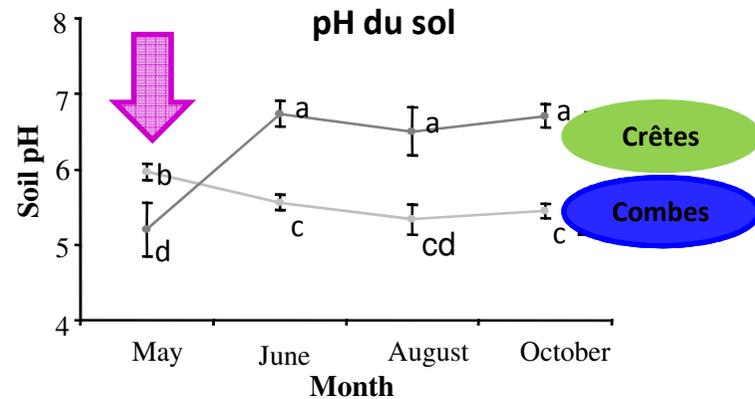


# Effet des régimes d'enneigement: Structure et dynamique des communautés



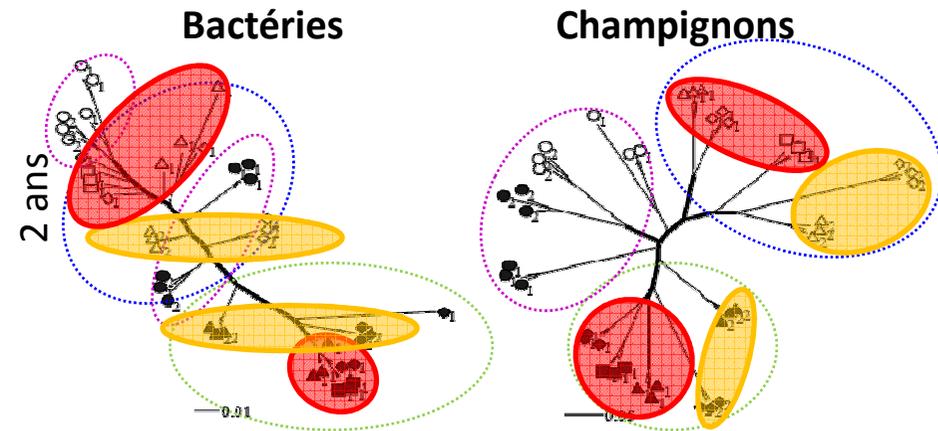
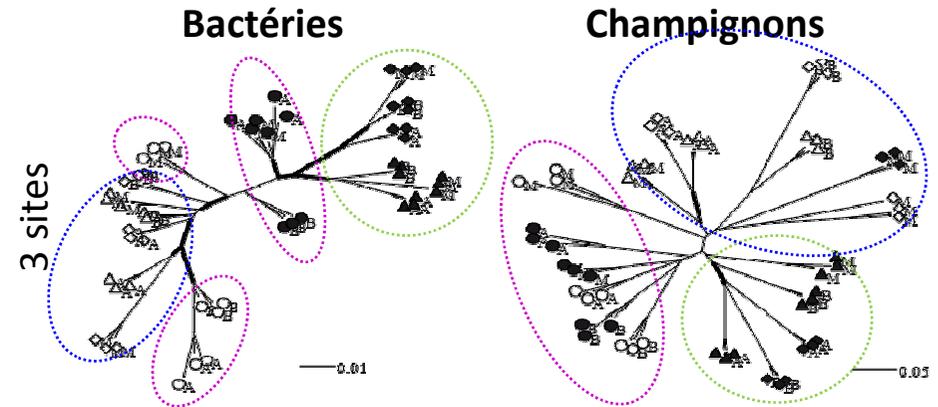
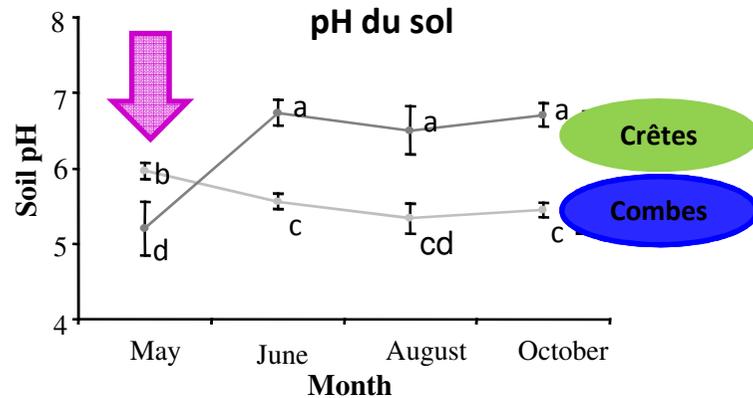
- Saison de végétation: Structuration par type de régimes d'enneigement

# Effet des régimes d'enneigement: Structure et dynamique des communautés



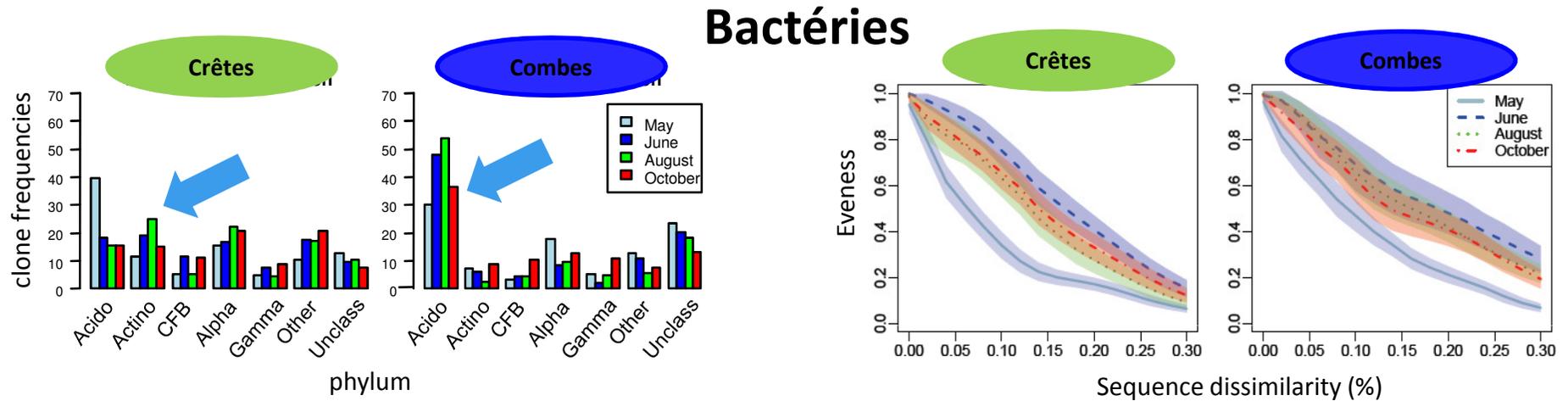
- Saison de végétation: Structuration par type de régimes d'enneigement
- Distances entre communautés de Combes et Crêtes réduites en hiver. Equilibration du pH du sol

# Effet des régimes d'enneigement: Structure et dynamique des communautés



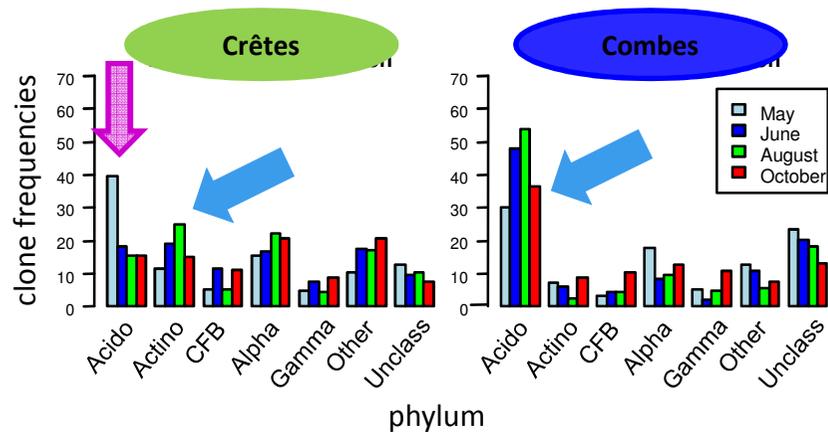
- Saison de végétation: Structuration par type de régime d'enneigement
- Distances entre communautés de Combes et Crêtes réduites en hiver. Equilibration du pH du sol
- Variations interannuelles > variations saisonnières (sauf hiver)

# Effet des régimes d'enneigement: Composition et diversité

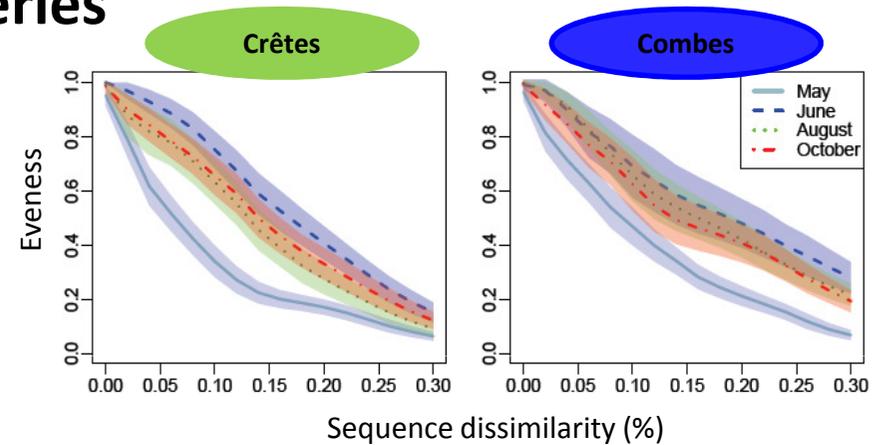


- Différences Crêtes (Actinobactéries) et Combes (Acidobactéries)

# Effet des régimes d'enneigement: Composition et diversité

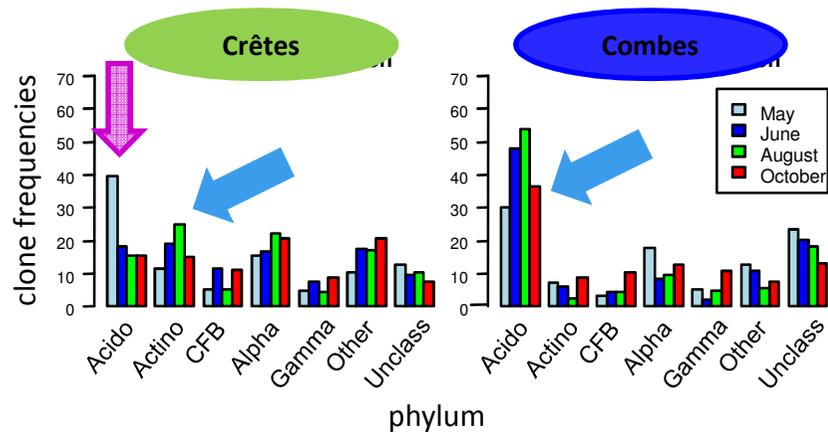


## Bactéries

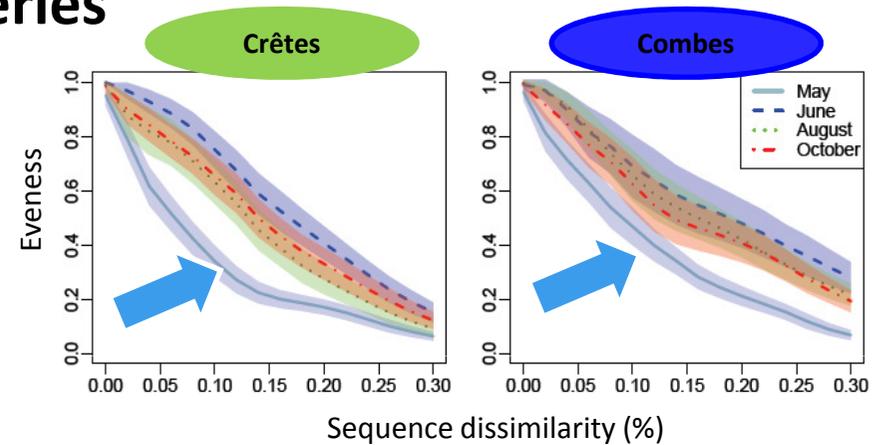


- Différences Crête (Actinobactéries) vs. Combe (Acidobactéries)
- Augmentation des Acidobactéries en Crête en hiver

# Effet des régimes d'enneigement: Composition et diversité



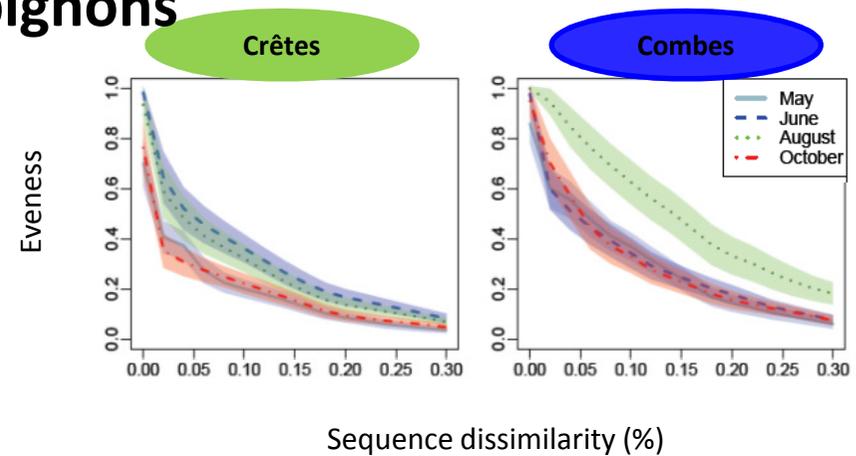
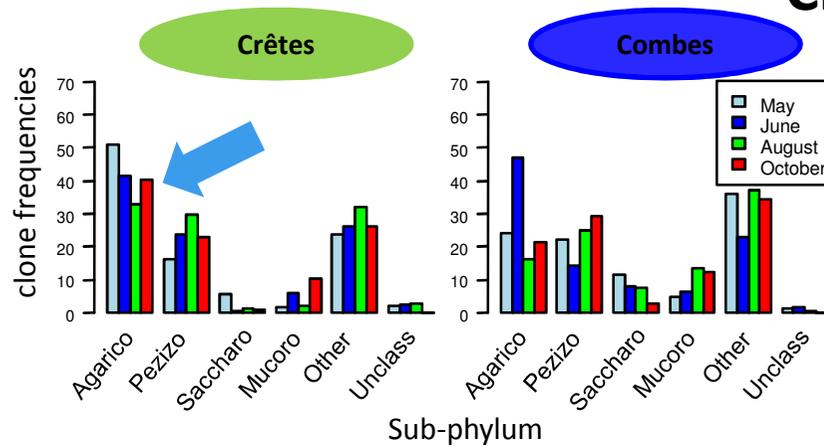
## Bactéries



- Différences Crête (Actinobactéries) vs. Combe (Acidobactéries)
- Augmentation des Acidobactéries en Crête en hiver
- Diversité bactérienne non affectée par les régimes d'enneigement, mais par l'hiver

# Effet des régimes d'enneigement: Composition et diversité

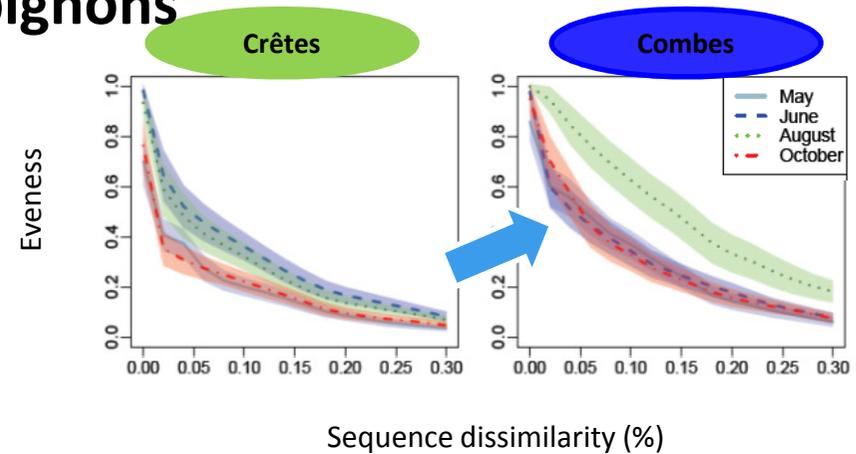
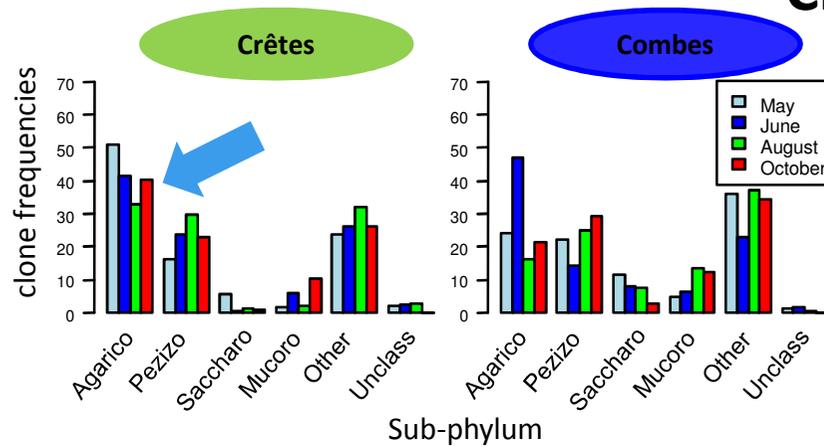
## Champignons



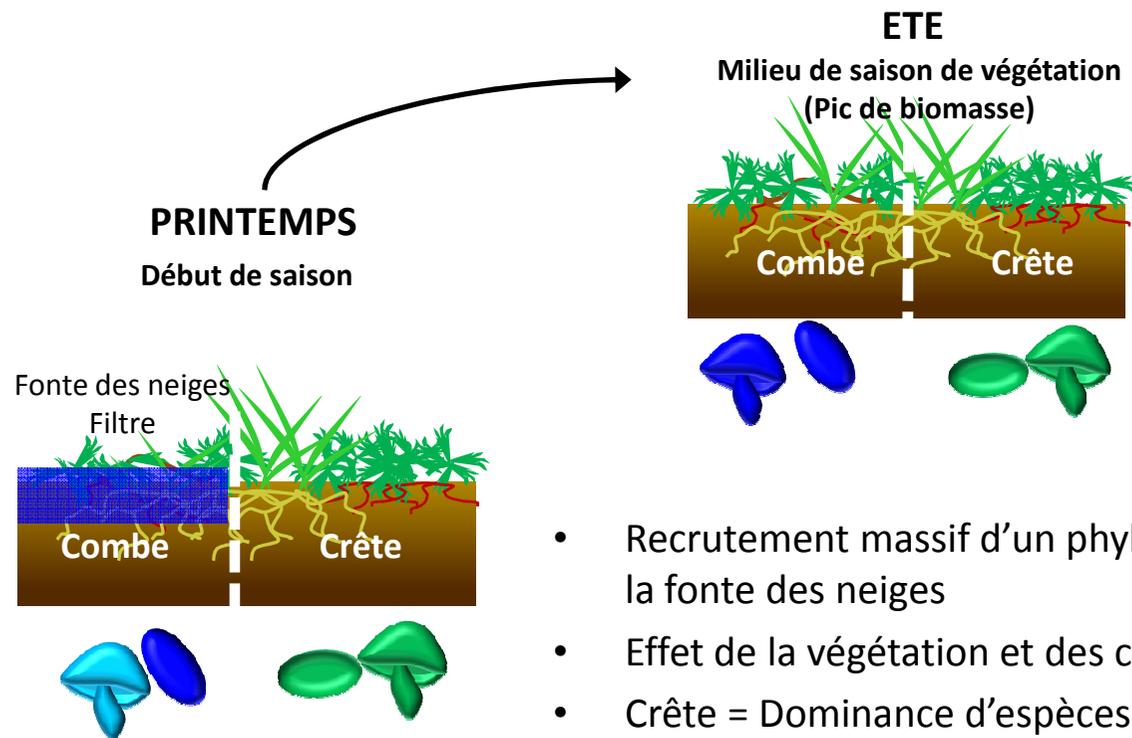
- Différences Crêtes (Agaricomycotina, surtout ectomycorhiziens) et Combes

# Effet des régimes d'enneigement: Composition et diversité

## Champignons



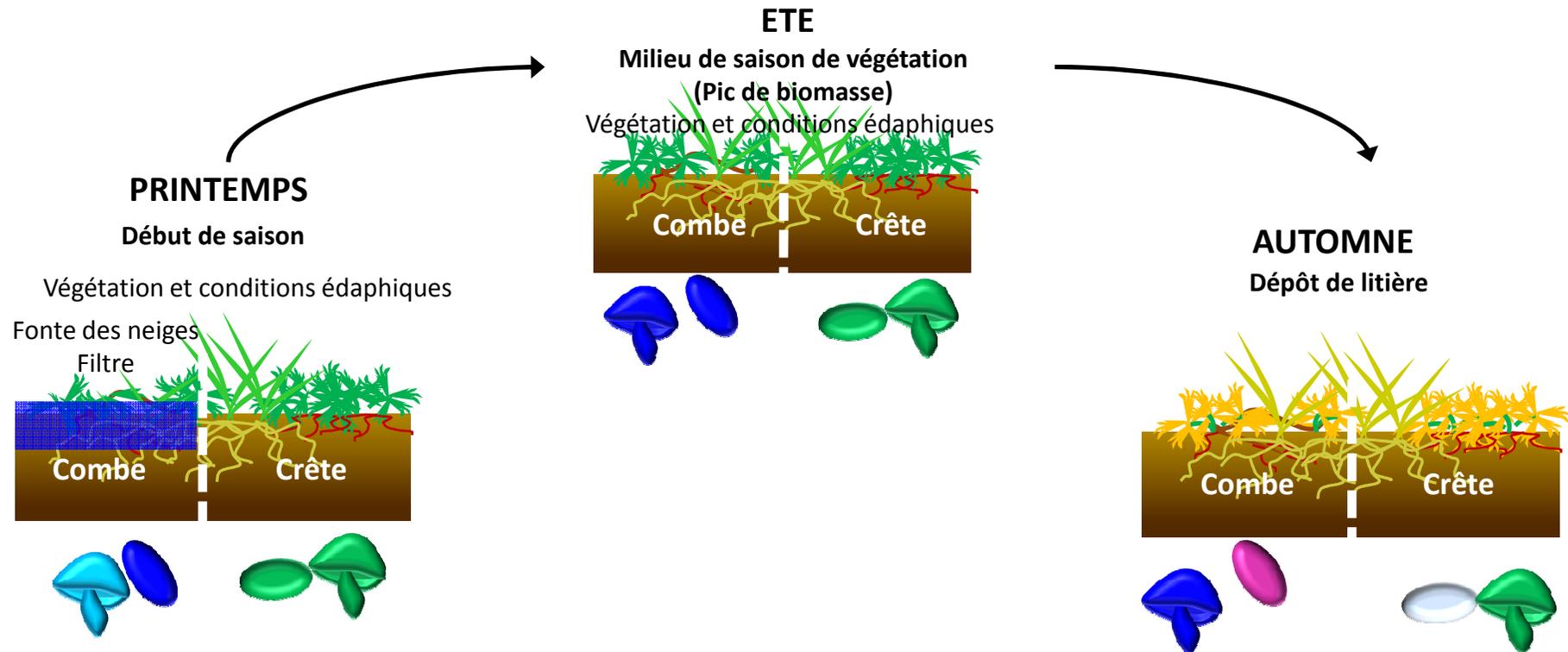
- Différences Crêtes (Agaricomycotina, surtout ectomycorhiziens) et Combes
- Diversité supérieure en Combe



- Recrutement massif d'un phylotype fongique en Combe durant la fonte des neiges
- Effet de la végétation et des conditions édaphiques
- Crête = Dominance d'espèces mycorhiziennes et/ou décomposeurs → milieu contraignant, limité en ressources
- Combe = Diversité fongique → milieu + fertile?

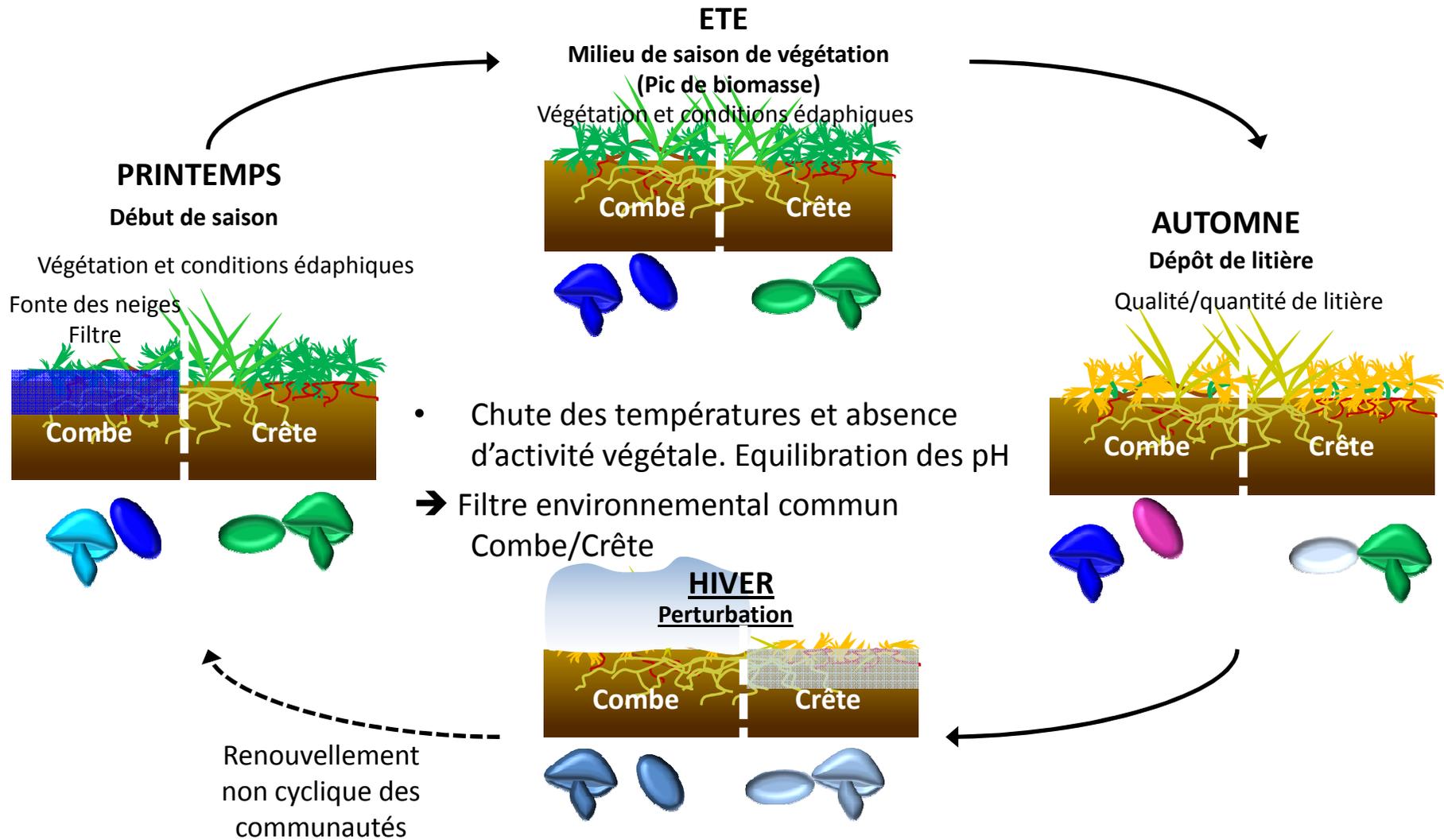
(Chapman et al. New Phytol 2006)

# Effets des régimes d'enneigement: Bilan

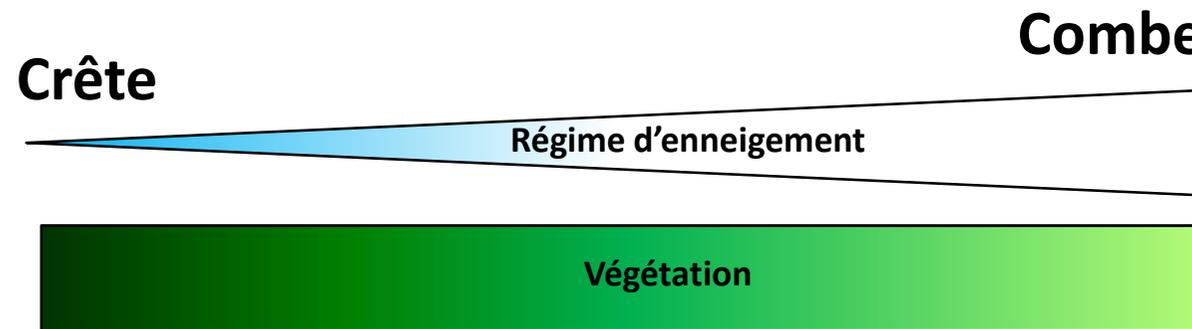


- Apports de MO complexe
- ➔ filtre des communautés bactériennes
- Communautés fongiques peu affectées

# Effets des régimes d'enneigement: Bilan



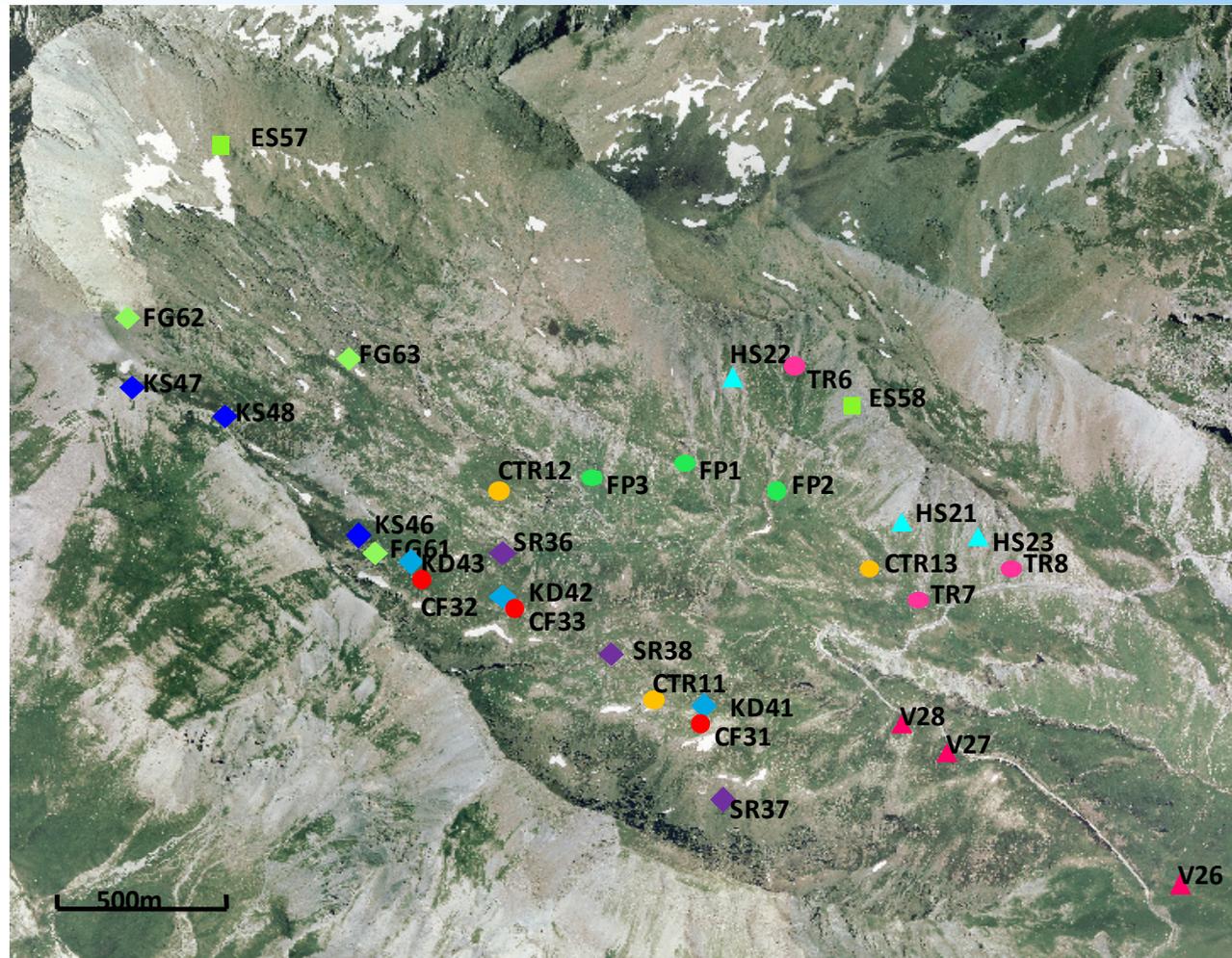
## Différence des communautés microbiennes aux deux extrêmes du gradient d'enneigement



... valable le long du gradient  
d'enneigement?

## Partie II

# Le paysage microbien reflète-t-il le paysage végétal?



# Micro-organismes et couvert végétal

## Description de l'étude

Symboles	Type de communauté	Espèces dominantes
●	Pelouse alpine chionophile	<i>Carex foetida</i> , <i>Alchemilla pentaphyllea</i> , <i>Salix herbacea</i>
●	Pelouse subalpine/alpine	<i>Carex sempervirens</i> , <i>Trifolium alpinum</i>
●	Pelouse subalpine	<i>Trifolium pratense</i> , <i>Geranium sylvaticum</i>
●	Pelouse subalpine mesophile	<i>Festuca paniculata</i>
■	Eboulis sur pente exposée Sud	<i>Crepis pygmaea</i> , <i>Doronicum grandiflorum</i>
◆	Pelouse subalpine/alpine mesophile	<i>Festuca violacea</i> , <i>Alchemilla filicaulis</i> , <i>Geum montanum</i>
◆	Pelouse alpine thermique sur crête	<i>Kobresia myosuroides</i> , <i>Dryas octopetala</i>
◆	Pelouse alpine thermique	<i>Kobresia myosuroides</i> , <i>Sesleria coerulea</i> , <i>Carex rosae</i>
◆	Lande psychrophile	<i>Salix retusa</i> , <i>Salix reticulata</i>
▲	Lande subalpine	<i>Vaccinium uliginosum</i> , <i>Vaccinium myrtillus</i>
▲	Pelouse écorchée subalpine sur éboulis	<i>Helictotrichon sedenense</i> , <i>Festuca violacea</i>

- 11 types de communautés végétales représentatives de la flore alpine (3 réplicats)

- Variables mesurées:

- Végétation: composition floristique (relevés), diversité et biomasse végétale
- Climat et topographie: modèles numériques de terrain + Aurhely (MétéoFrance)
- Sol: matière organique, pH

→ Analyse des communautés microbiennes par CE-SSCP

### Crenarchaeotes



### Champignons

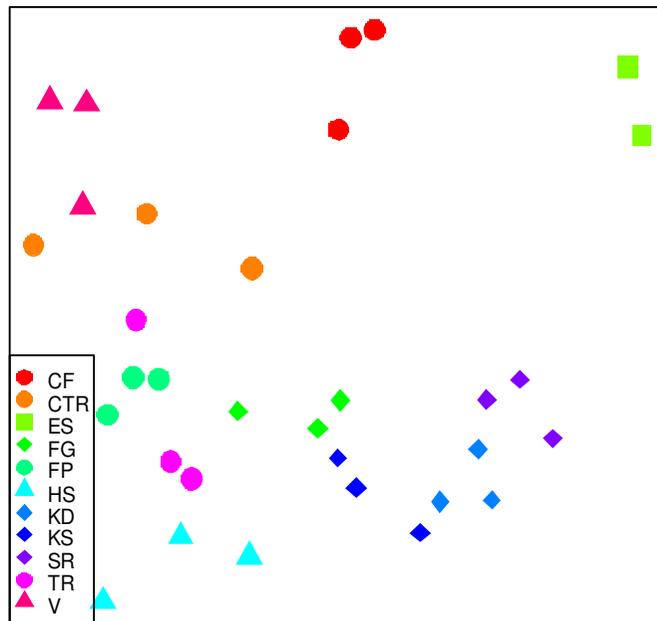


### Bactéries

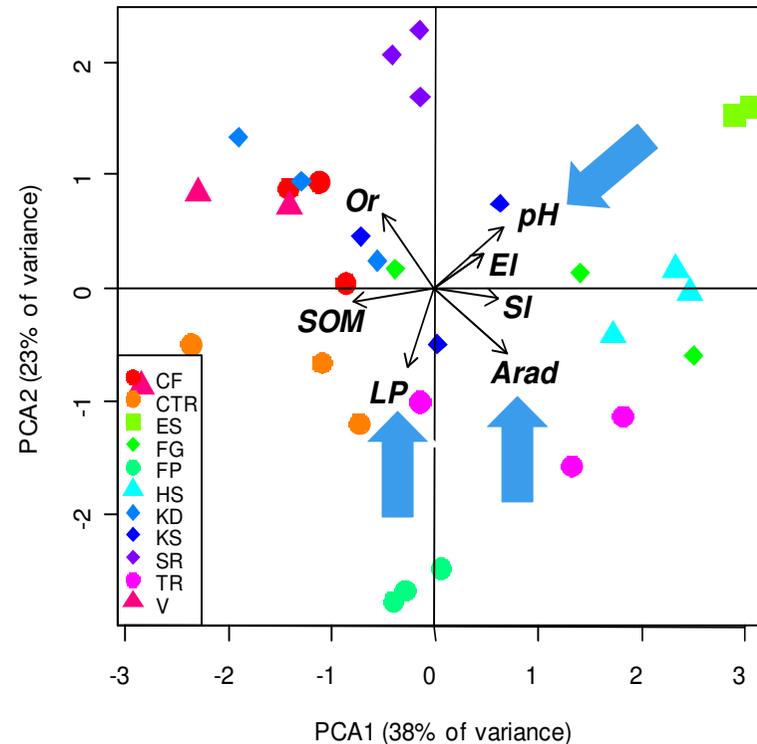
# Micro-organismes et couvert végétal

## Caractérisation des sites

Composition floristique



Conditions environnementales



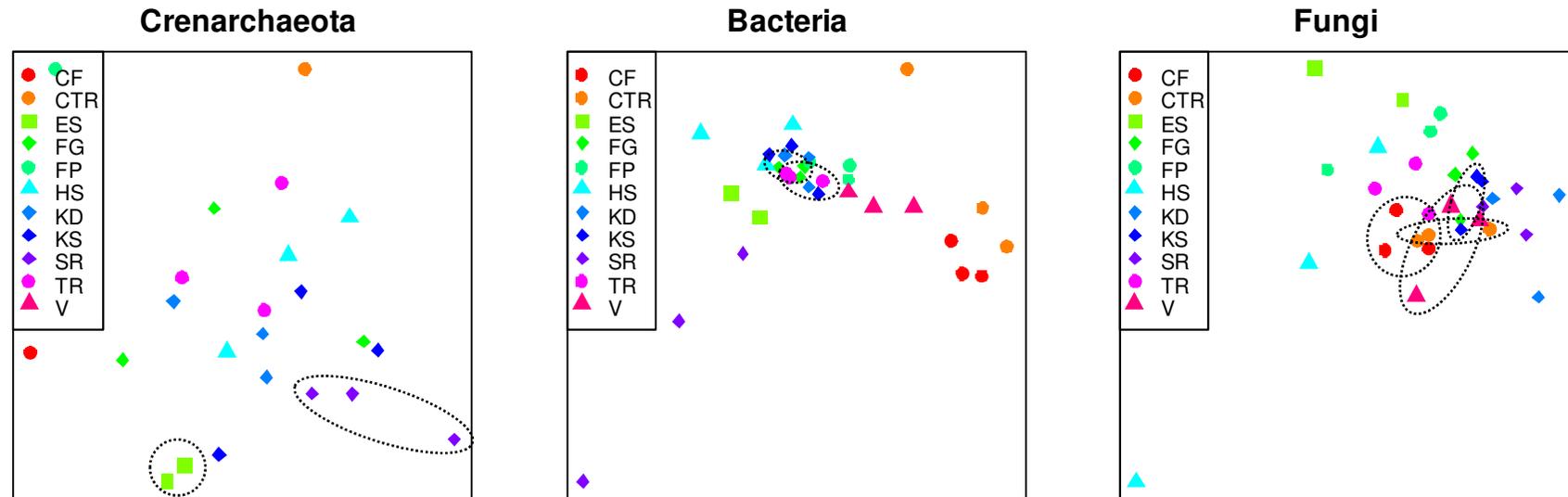
- Or: Orientation
- Arad: Radiations annuelles
- El: Altitude
- Sl: Pente
- pH: pH du sol
- SOM: Matière organique du sol
- LP: Phytomasse verte

# Micro-organismes et couvert végétal

## Caractérisation des sites

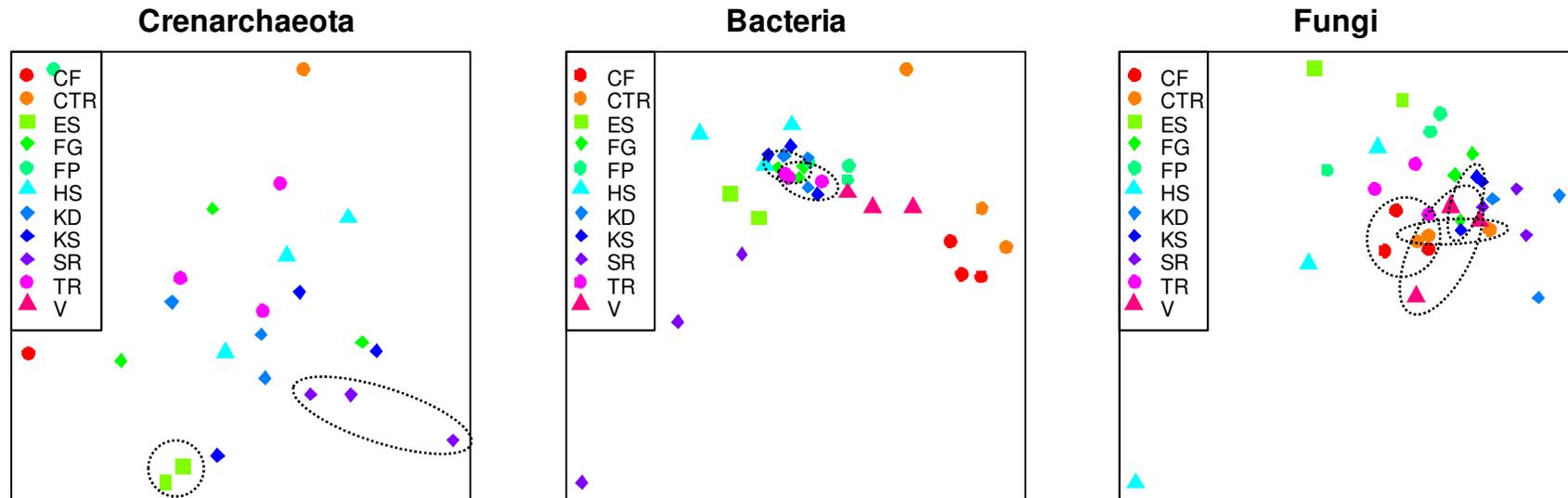
Variables	Spearman rank $\rho$ values
	Plant
Environmental conditions	
Single variable	
Elevation	0.04
Slope	0.12 *
Orientation	0.20 **
Annual radiations	0.23 ***
Soil pH	0.40 ***
% SOM	0.36 ***
Live phytomass	0.04
Multiple variables	•Soil pH + %SOM: 0.52 *** Soil pH + %SOM + annual radiations: 0.58 ***
Geographic distance	0.14 *

- Nombreuses variables corrélées à la composition floristique des sites. **pH**
- Faible effet de la distance géographique sur la composition floristique



- Importante variabilité pour un même type de communauté végétale...

# Micro-organismes et couvert végétal



- Importante variabilité pour un même type de communauté végétale...

Variables	Spearman rank $\rho$ values		
	Crenarchaeotes	Bacteria	Fungi
Floristic composition	0.43 ***	0.44 ***	0.30 **
Floristic Evenness	0.29 *	0.18 *	0.19 *

- ... Mais corrélation entre composition des communautés microbiennes et végétales.
- Corrélation faible avec la diversité végétale

# Micro-organismes et couvert végétal relation avec l'environnement

Variables	Spearman rank $\rho$ values		
	Crenarchaeotes	Bacteria	Fungi
Environmental conditions			
Single variable			
Elevation	0.02	-0.18	-0.001
Slope	-0.09	0.10	-0.04
Orientation	0.13	0.11	0.02
Annual radiations	0.02	0.16 **	0.14 **
Soil pH	0.35 ***	0.62 ***	0.28 **
% SOM	0.09	0.06	0.15 *
Live phytomass	0.12	-0.08	0.32 **
Multiple variables		soil pH + annual radiations: 0.54 ***	
		live phytomass + soil pH: 0.39 ***	
		live phytomass + soil pH + % SOM: 0.36 ***	
Geographic distance	-0.07	-0.09	0.11

- Composition des communautés corrélée au pH du sol, spécialement chez les bactéries

# Micro-organismes et couvert végétal relation avec l'environnement

Variables	Spearman rank $\rho$ values		
	Crenarchaeotes	Bacteria	Fungi
Environmental conditions			
Single variable			
Elevation	0.02	-0.18	-0.001
Slope	-0.09	0.10	-0.04
Orientation	0.13	0.11	0.02
Annual radiations	0.02	0.16 **	0.14 **
Soil pH	0.35 ***	0.62 ***	0.28 **
% SOM	0.09	0.06	0.15 *
Live phytomass	0.12	-0.08	0.32 **
Multiple variables		soil pH + annual radiations: 0.54 ***	live phytomass + soil pH: 0.39 *** live phytomass + soil pH + % SOM: 0.36 ***
Geographic distance	-0.07	-0.09	0.11

- Composition des communautés corrélée au pH du sol, spécialement chez les bactéries
- Composition des communautés fongiques liée à d'autres variables, notamment la phytomasse verte

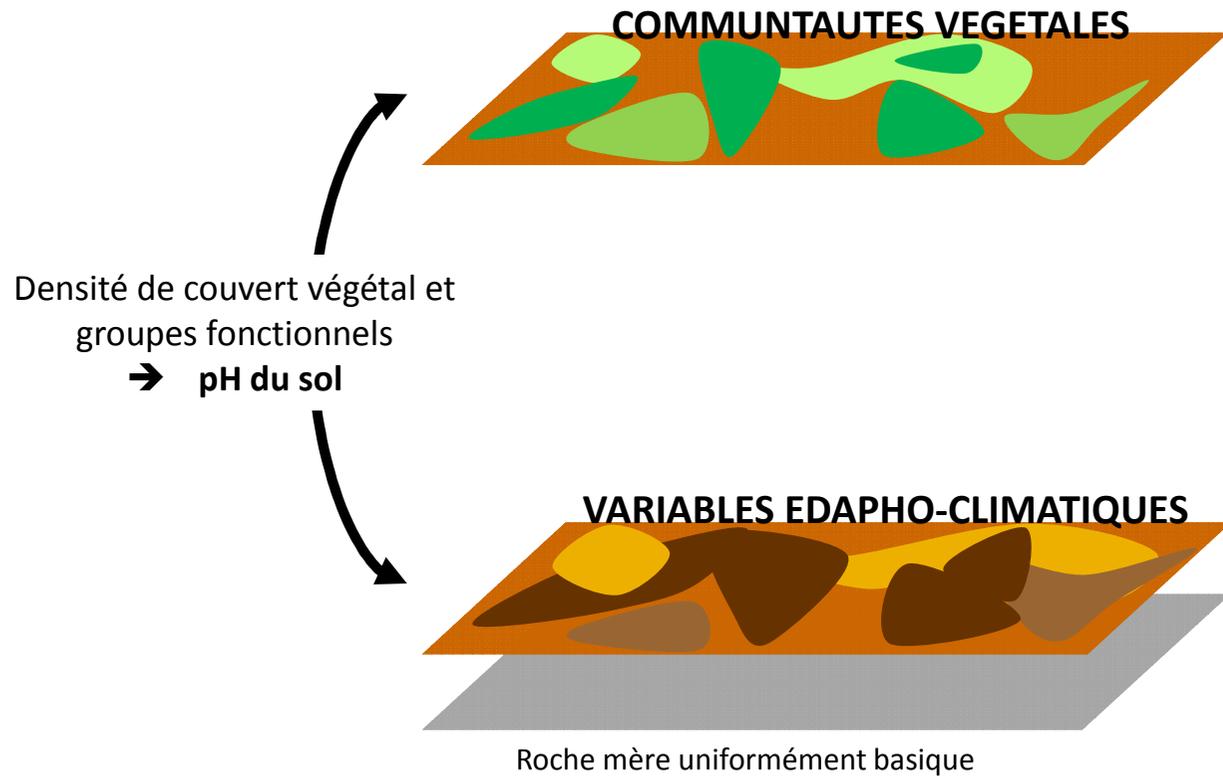
# Micro-organismes et couvert végétal relation avec l'environnement

Variables	Spearman rank $\rho$ values		
	Crenarchaeotes	Bacteria	Fungi
Environmental conditions			
Single variable			
Elevation	0.02	-0.18	-0.001
Slope	-0.09	0.10	-0.04
Orientation	0.13	0.11	0.02
Annual radiations	0.02	0.16 **	0.14 **
Soil pH	0.35 ***	0.62 ***	0.28 **
% SOM	0.09	0.06	0.15 *
Live phytomass	0.12	-0.08	0.32 **
Multiple variables		soil pH + annual radiations: 0.54 ***	
		live phytomass + soil pH: 0.39 ***	
		live phytomass + soil pH + % SOM: 0.36 ***	
Geographic distance	-0.07	-0.09	0.11

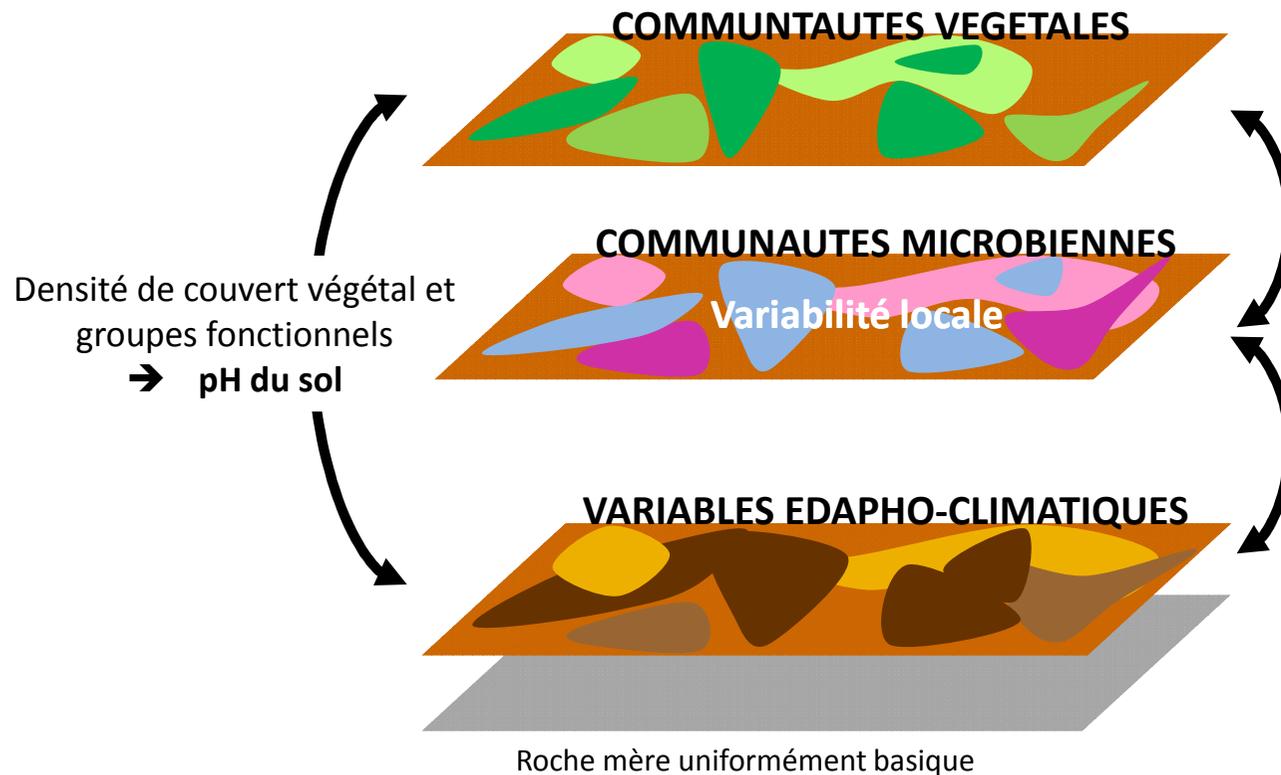
- Composition des communautés corrélée au pH du sol, spécialement chez les bactéries
- Composition des communautés fongiques liée à d'autres variables, notamment la biomasse verte
- Composition des communautés non corrélée à la distance géographique



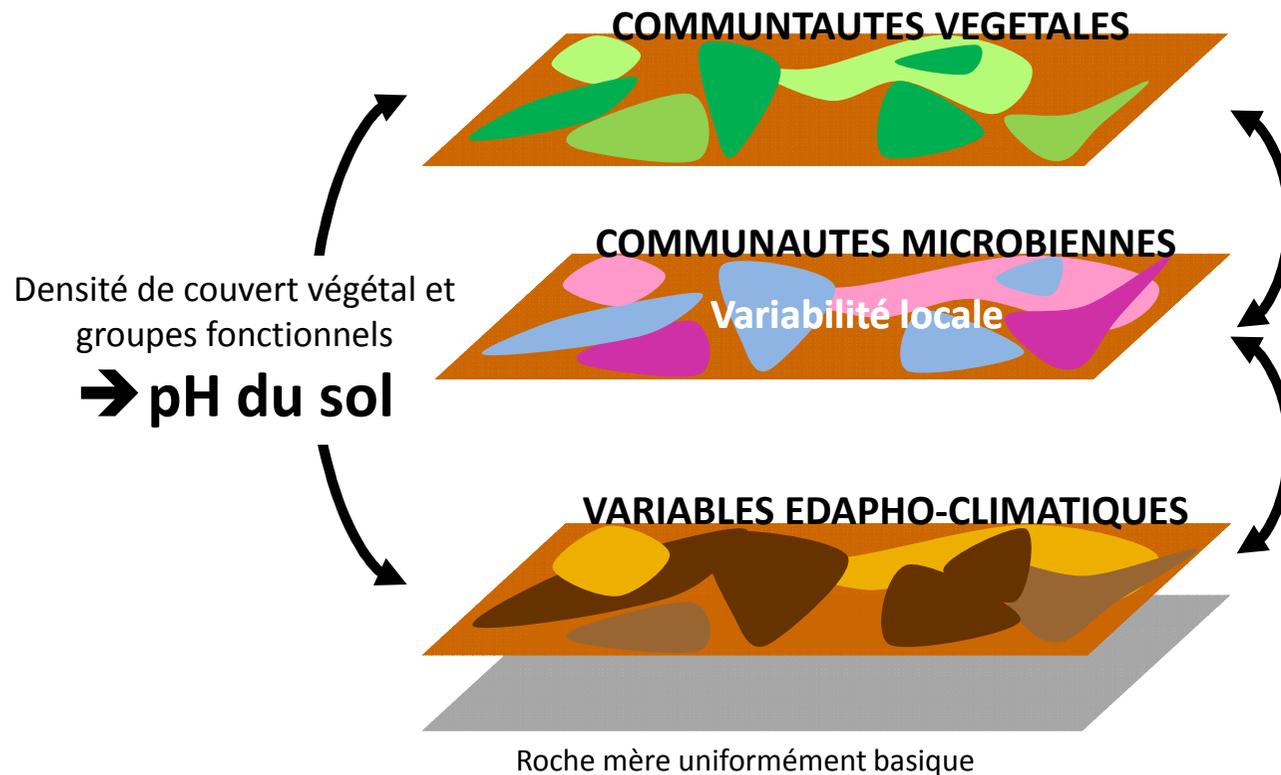
Roche mère uniformément basique



- Végétation et variables environnementales → facteurs confondants



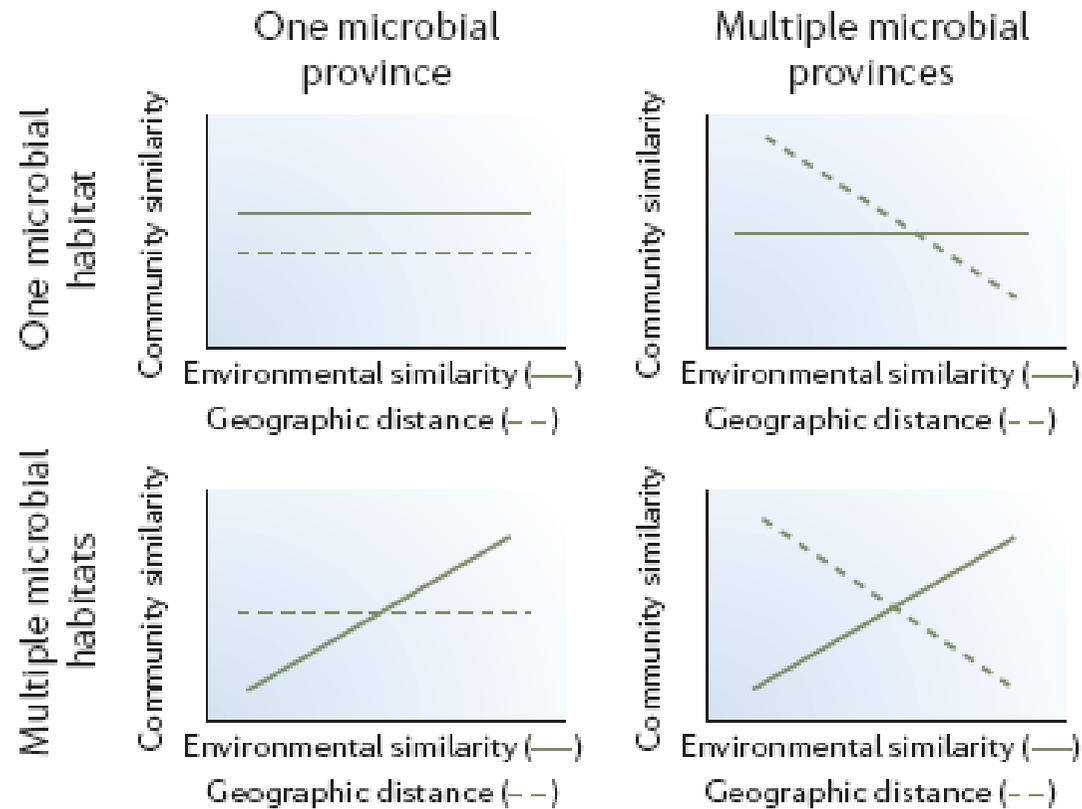
- Végétation et variables environnementales → facteurs confondants
- Communautés microbiennes suivent les patrons spatiaux de l'interaction végétation/édapho-climatique → organisation paysagère cohérente



- Végétation et variables environnementales → facteurs confondants
- Communautés microbiennes suivent les patrons spatiaux de l'interaction végétation/édapho-climatique → organisation paysagère cohérente
- pH bon indicateur de la distribution spatiale des communautés microbiennes. Quoi derrière?

# Micro-organismes et couvert végétal

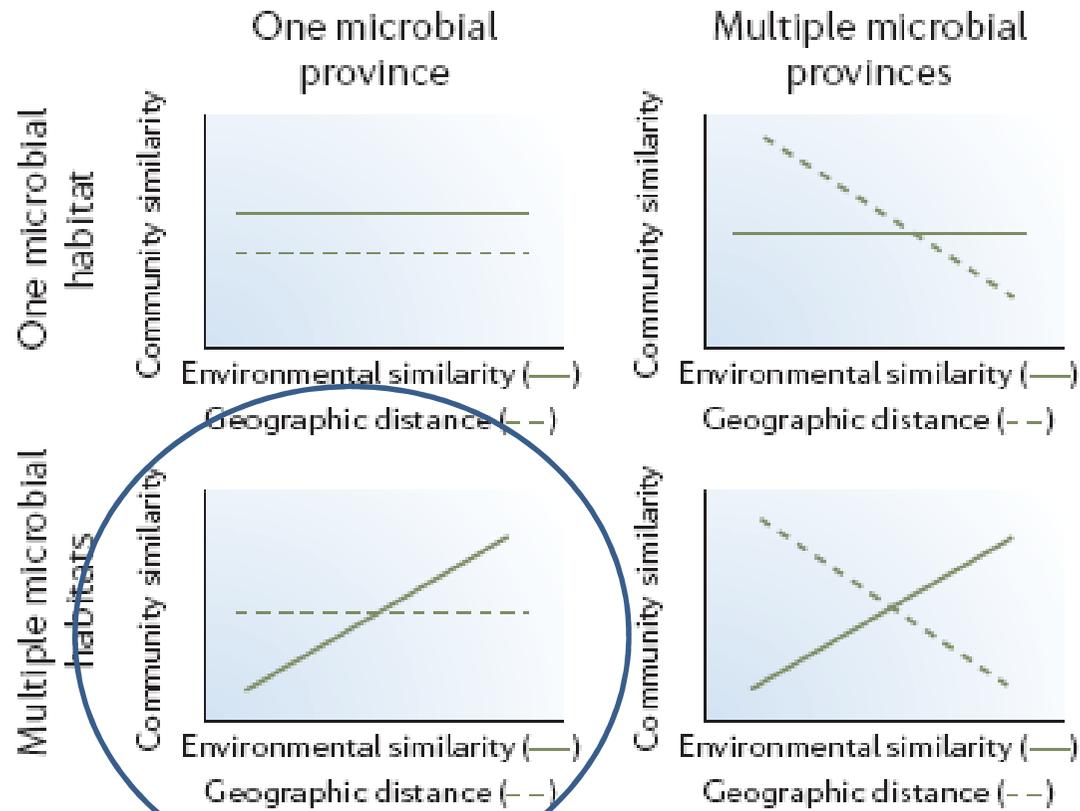
## Bilan



*Effets supposés des composantes écologiques et historiques sur les communautés microbiennes  
(Hughes Martiny et al 2006, Nat Rev Microb)*

# Micro-organismes et couvert végétal

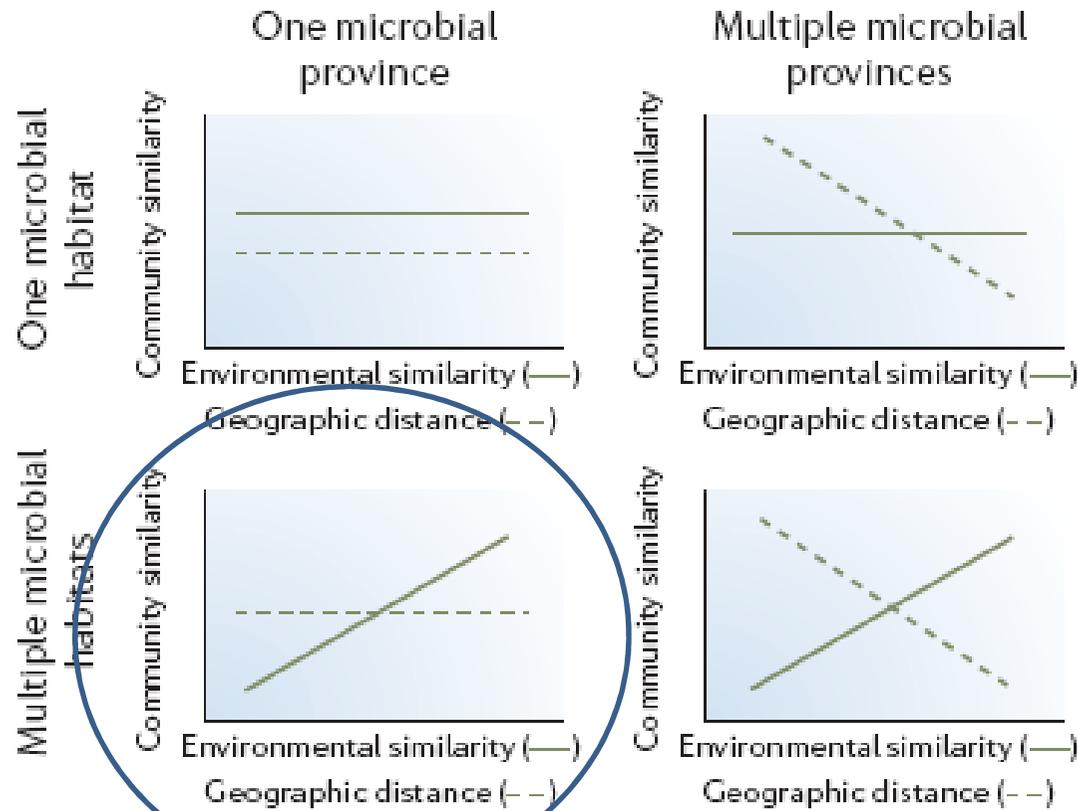
## Bilan



*Effets supposés des composantes écologiques et historiques sur les communautés microbiennes (Hughes Martiny et al 2006, Nat Rev Microb)*

# Micro-organismes et couvert végétal

## Bilan

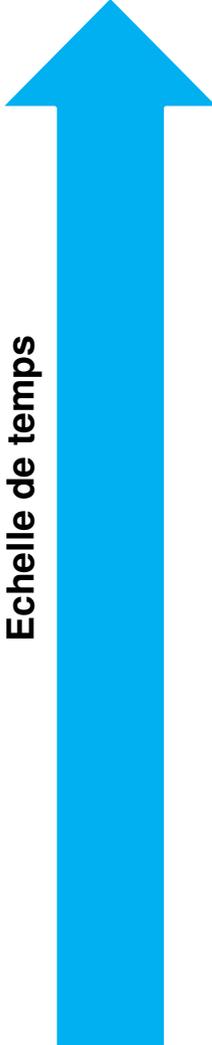


*Effets supposés des composantes écologiques et historiques sur les communautés microbiennes  
(Hughes Martiny et al 2006, Nat Rev Microb)*

**"Everything is everywhere, but, the environment selects" ...**  
***At the landscape scale***



**Echelle de temps**



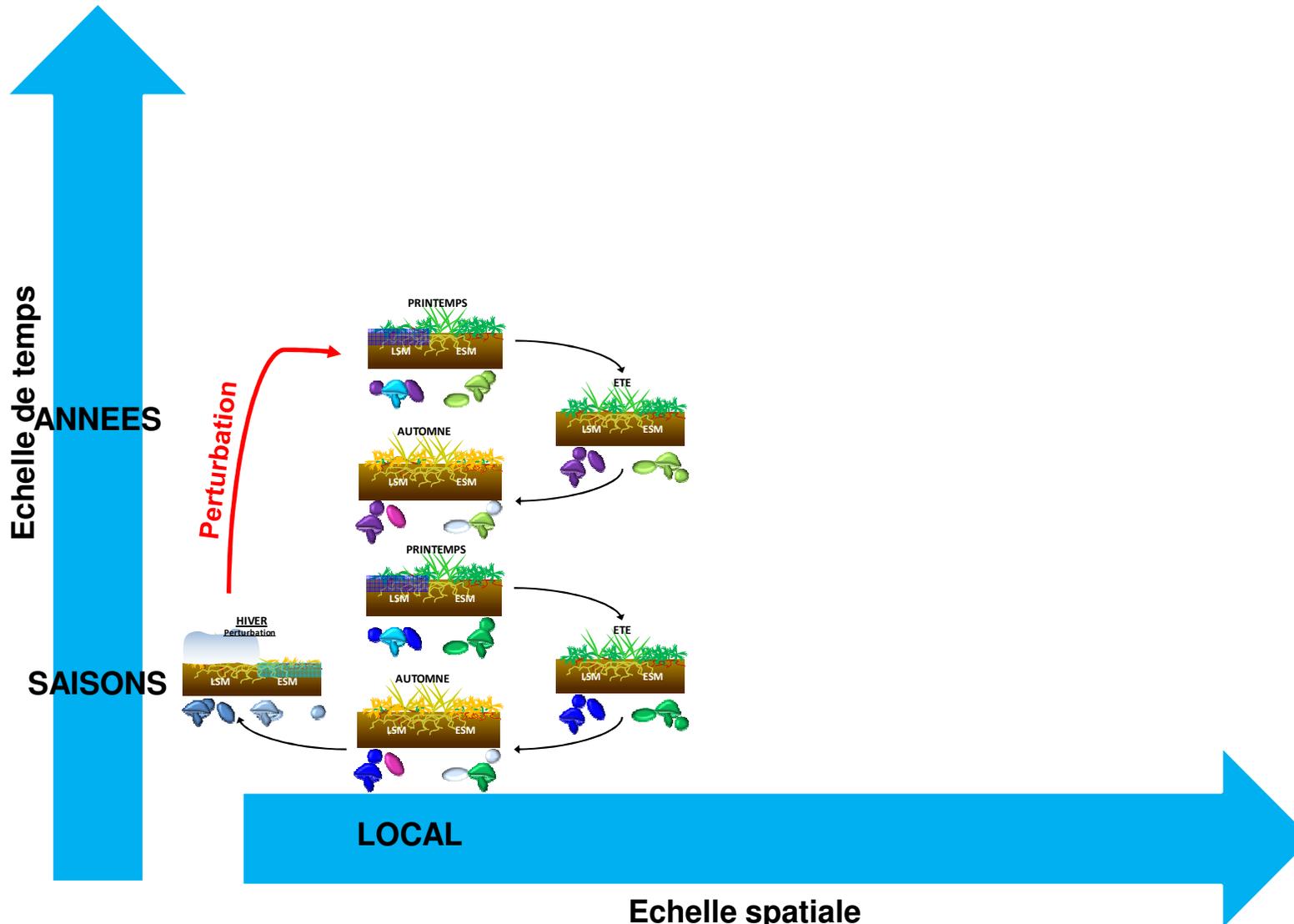
10 Juill. 2009

**Echelle spatiale**



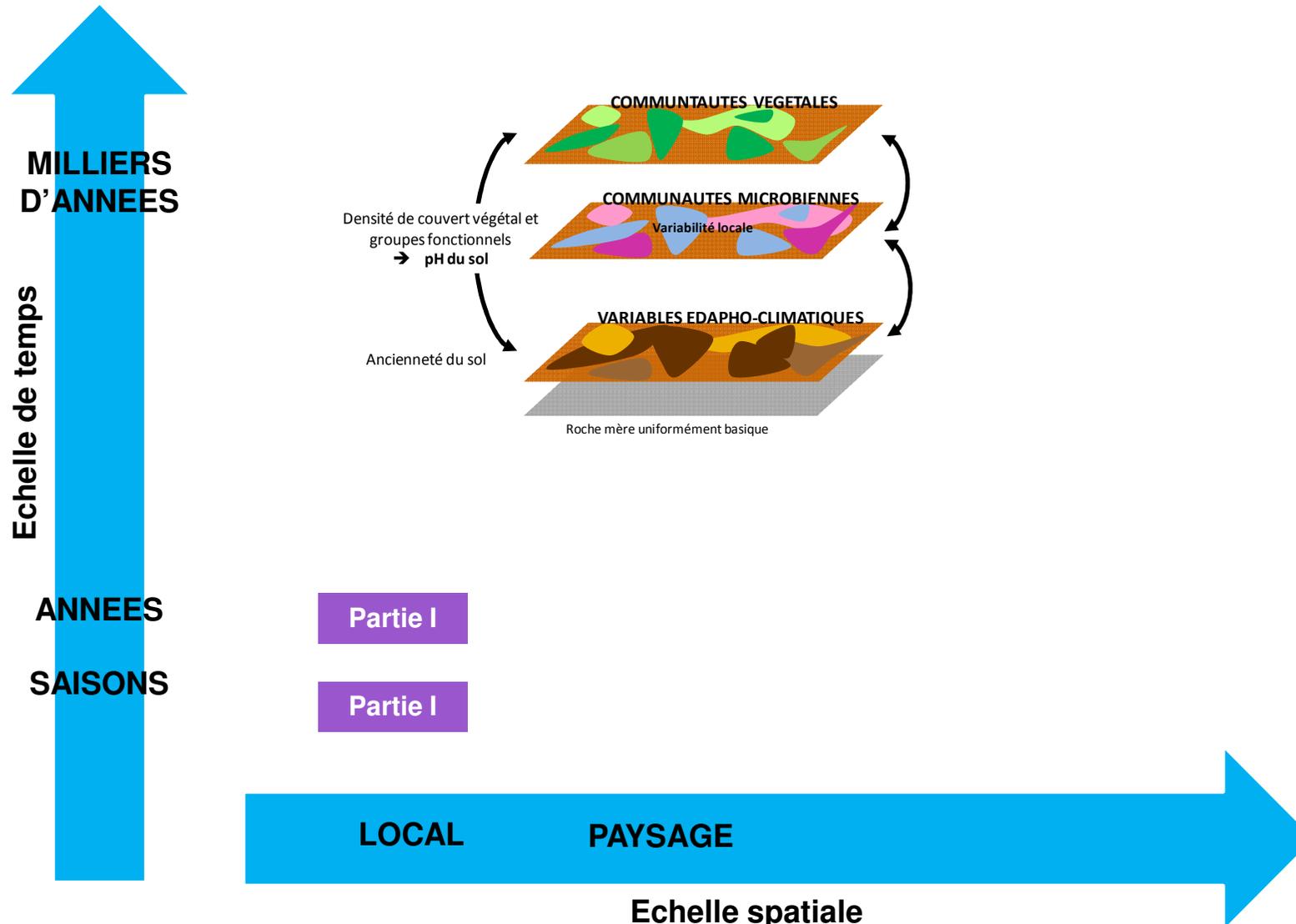
Soutenance de thèse Lucie Zinger





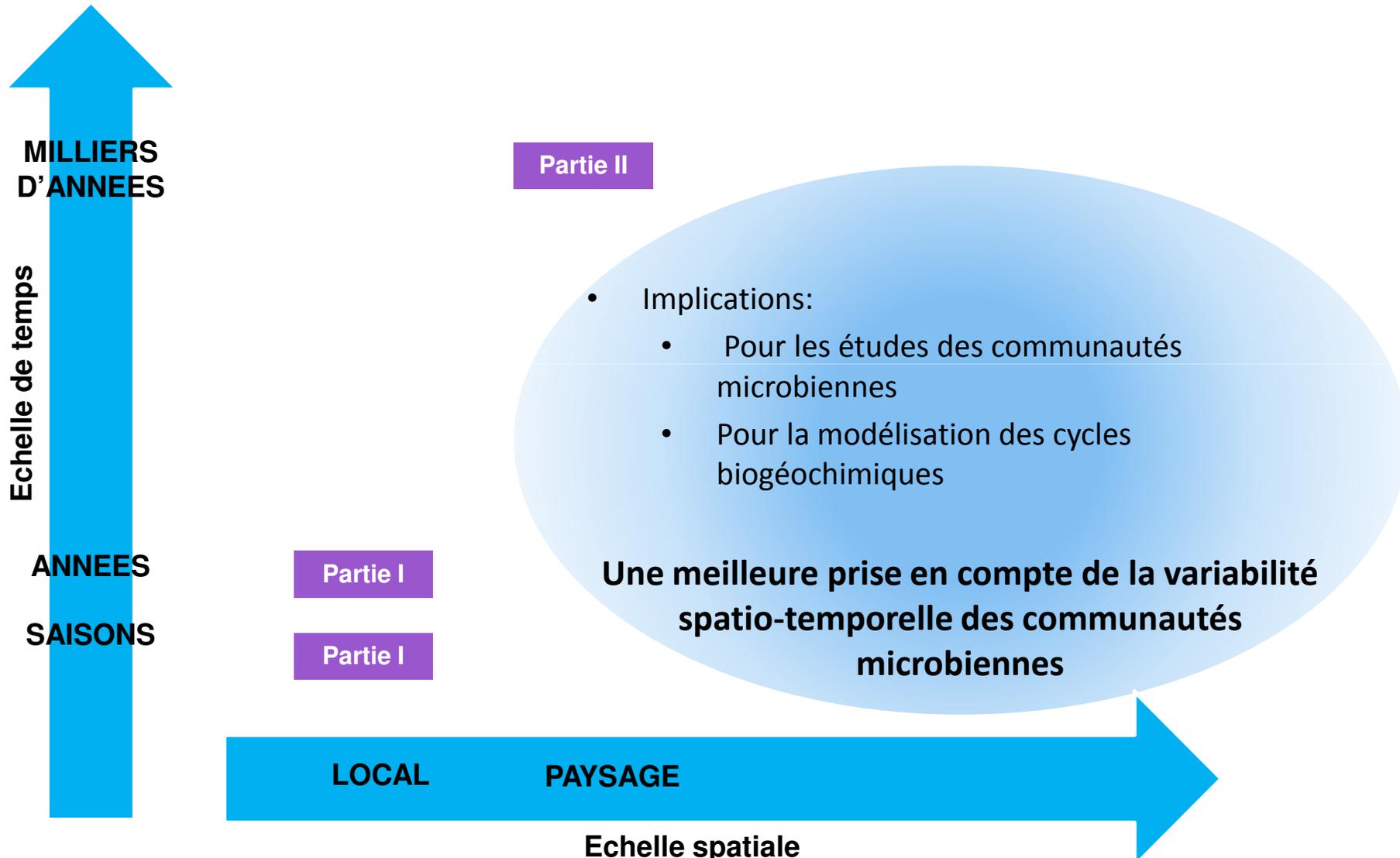
# Conclusion/Perspectives

## Vers une biogéographie microbienne



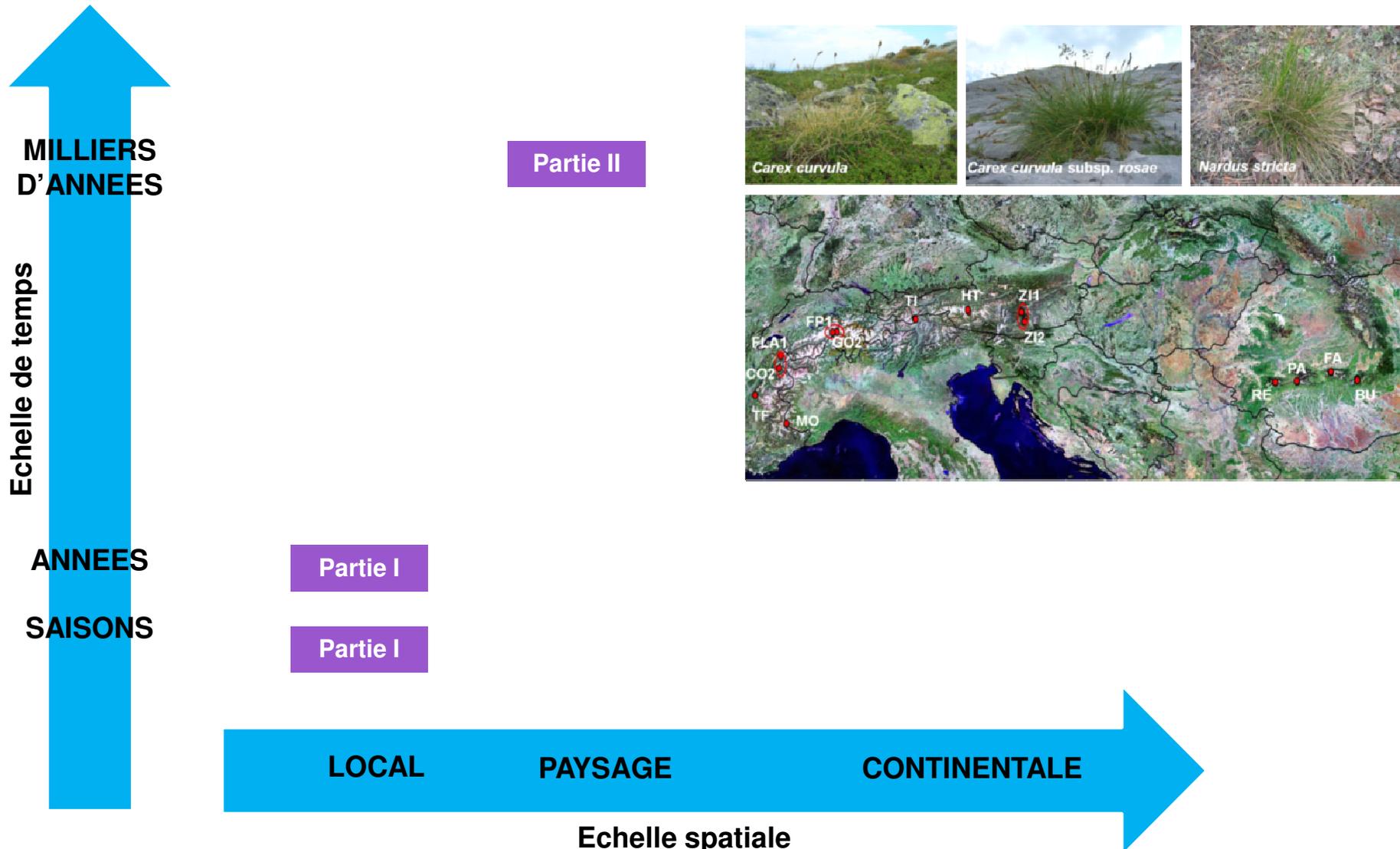
# Conclusion/Perspectives

## Vers une biogéographie microbienne



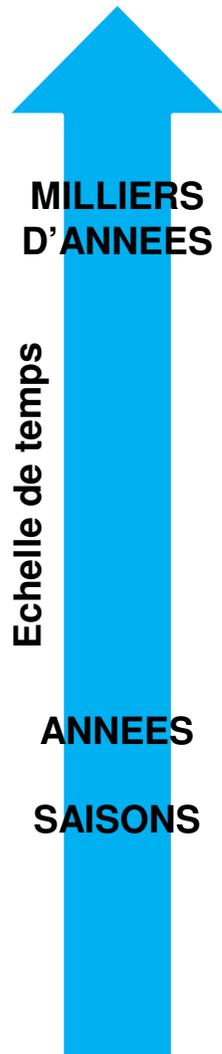
# Conclusion/Perspectives

## Vers une biogéographie microbienne

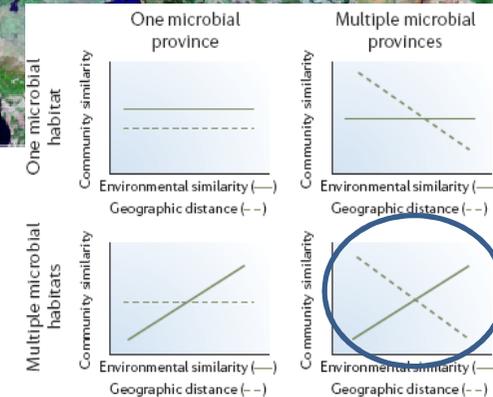
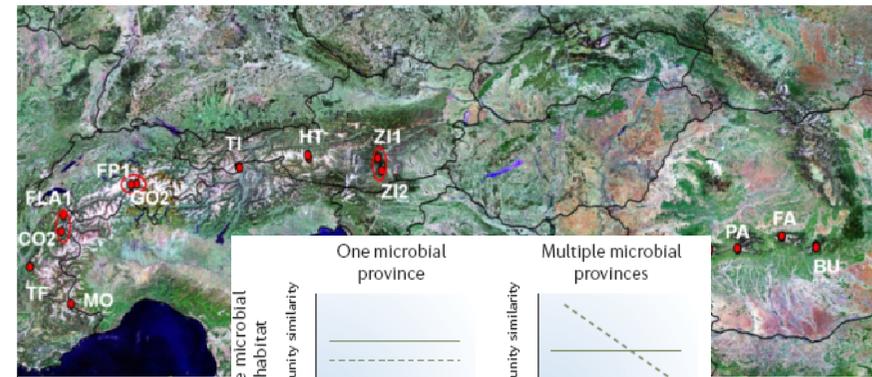


# Conclusion/Perspectives

## Vers une biogéographie microbienne



Partie II



Partie I

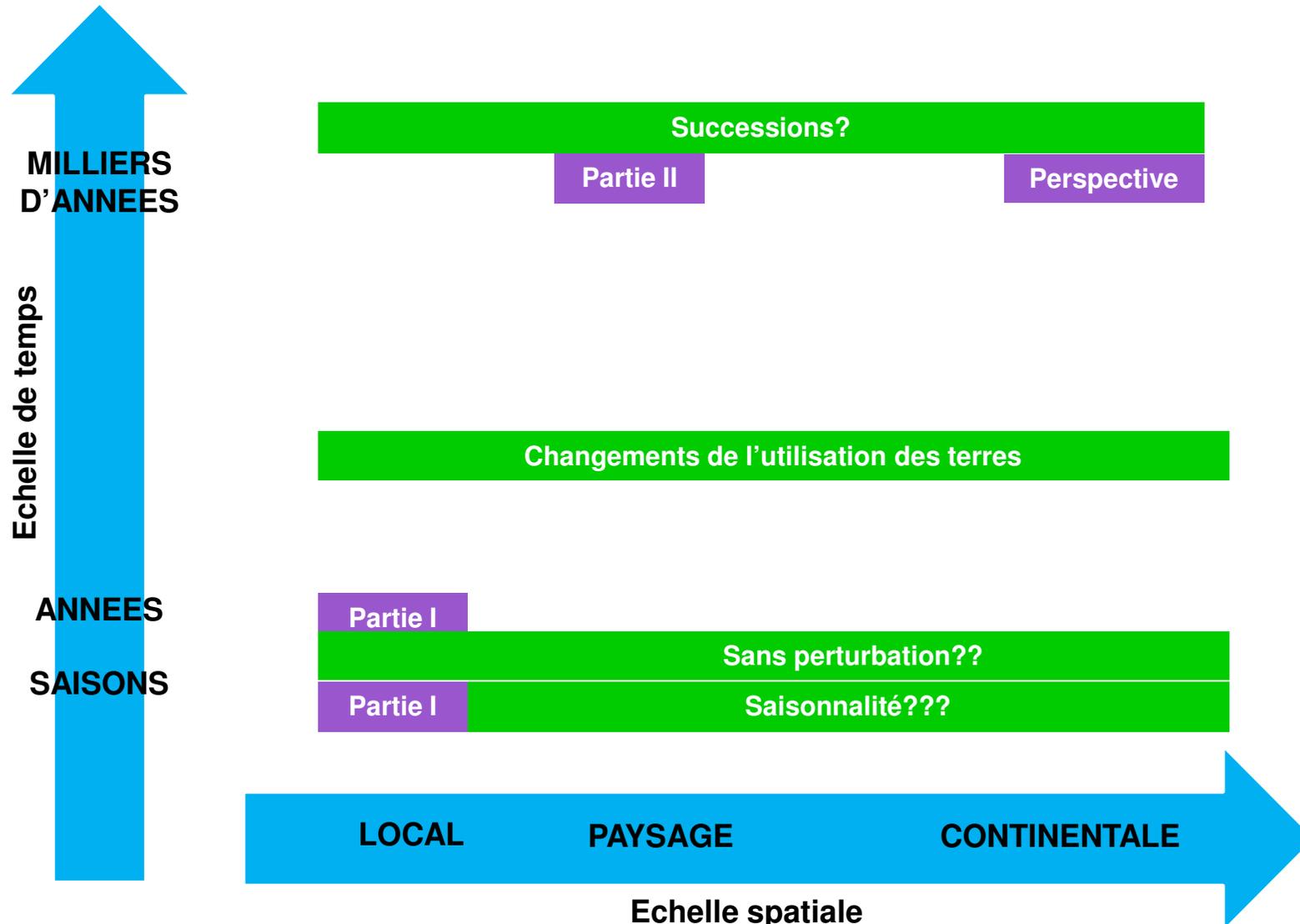
Partie I



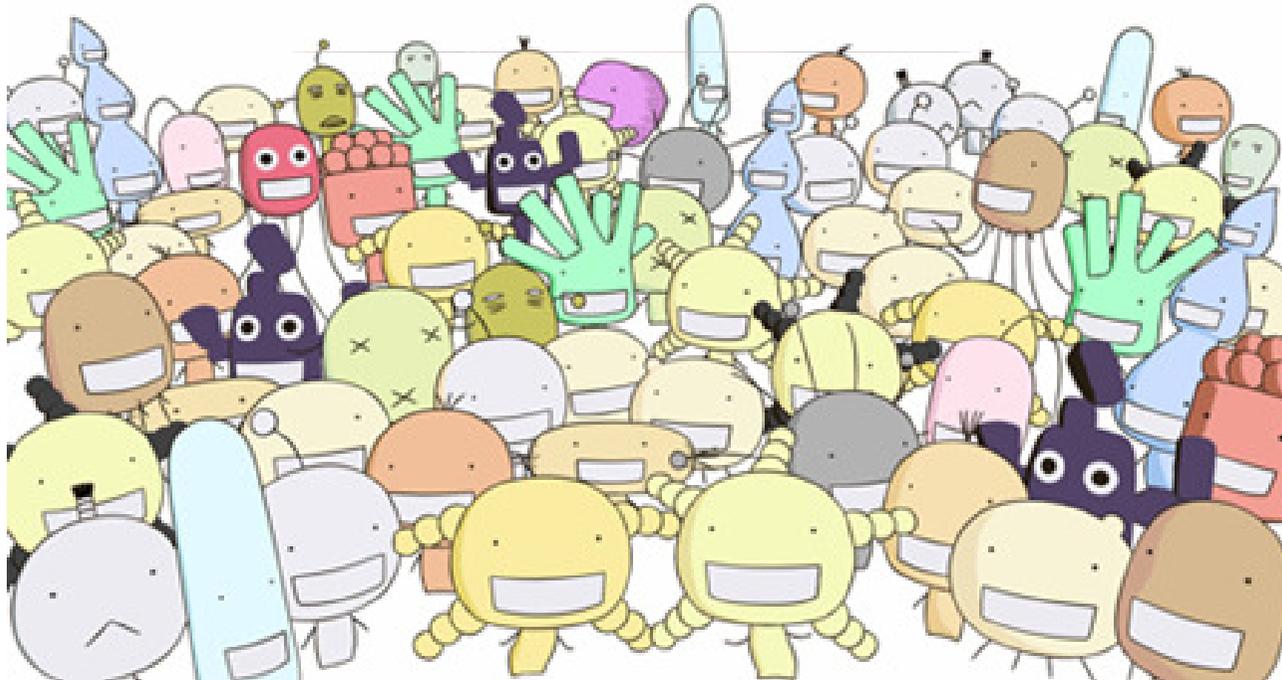
- Introduction
- Objectifs
- Méthodes
- Partie I
- Partie II
- Conclusions / Perspectives

# Conclusion/Perspectives

## Et après...



# Bref... on ne fait que commencer!



10 Juill. 2009

Soutenance de thèse Lucie Zinger



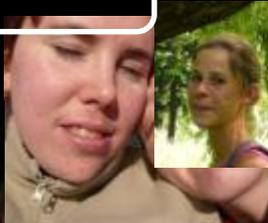
Chefs

Collègues

# A TOUS MERCI!!!

Famille

Potes



# Merci de votre attention



10 Juill. 2009

Soutenance de thèse Lucie Zinger