



Muséum
national
d'Histoire
naturelle

Proposition de stage

Parcours Master 2 « Microbiologie, Environnement, Santé »

Responsables : Dr. Fabien JOUX (UPMC) / Pr. Cécile BERNARD (MNHN)

1. Laboratoire / Entreprise d'accueil :

Intitulé : UMR 7618 iEES équipe Communautés microbiennes des milieux continentaux
Adresse : Ecole Normale Supérieure, 6^{ème} étage, 46 rue d'Ulm, 75005 PARIS
Responsable du Laboratoire / Entreprise : Luc Abbadie
Responsable de l'encadrement : J.C. Lata et J. Leloup
Téléphone : 01 44 32 39 97
Fax : 01 44 32 38 85
E-mail : lata@biologie.ens.fr
Co-encadrant : julie.leloup@upmc.fr

Perspectives de poursuite de thèse :

X oui avec une bourse spécifique o oui
o non X non

Le sujet peut donner lieu à une poursuite en thèse mais à l'heure qu'il est le laboratoire ne dispose pas d'un financement dédié.

2. Titre, description du sujet, approches utilisées, références (2 pages maximum):

Impact de la diversité des Graminées et ligneux de savane sur la diversité microbienne et le fonctionnement des sols : cycle de l'azote

La minéralisation de l'azote (N) organique, la nitrification et la dénitrification sont des étapes essentielles du cycle de l'N dans les sols. Les plantes ont la capacité d'utiliser diverses formes d'N (N organique, NH_4^+ -N et NO_3^- -N) et ne dépendent donc pas uniquement du NO_3^- (Boudsocq et al, 2012). Dans beaucoup d'écosystèmes, la nitrification (l'oxydation biologique de l'ammonium en nitrate *via* le nitrite) constitue la voie dominante de circulation de l'N, entre autres dans les systèmes agricoles (culture ou pâturages) où le NO_3^- compte pour > 95% de l'absorption totale d'N par les plantes. Cette nitrification est effectuée principalement par deux groupes de bactéries chimio-lithotrophiques (*Nitrosomonas* sp. et *Nitrobacter* spp.), qui sont omniprésents dans les sols (Norton et al, 2002). En outre, les archées du sol sont probablement capables de nitrification car elles possèdent le gène AMO comme *Nitrosomonas*. La présence d'archées a été signalée dans la plupart des sols et semble être répandue, mais leur contribution relative à la nitrification du sol est inconnue, car la plupart des archées ne peuvent être cultivées à l'heure actuelle (Leninger et al, 2006).

Comme le NO_3^- produit par nitrification peut être lixivié ou dénitrifié, cela rend le cycle de l'N sujet à des fuites d'N réactif dans l'environnement, diminuant la fertilité des écosystèmes riches en NO_3^- comme les prairies ou les systèmes agricoles et pouvant engendrer une forte pollution et

eutrophisation de l'environnement (Schlesinger, 2009). Toute préférence d'utilisation entre le NH_4^+ et le NO_3^- mise à part, un niveau de nitrification faible dans les écosystèmes ne devrait donc pas limiter la disponibilité de l'N pour les plantes, mais au contraire le rendrait plus disponible pour les plantes en réduisant les pertes d'N par lessivage et dénitrification.

Les savanes tropicales humides en Afrique ont depuis longtemps été identifiés comme étant des systèmes à très faible taux de nitrification (Lata et al, 1999, 2000, 2004). Or, la plupart de ces savanes sont considérées comme des écosystèmes pauvres en nutriments, ce qui devrait limiter la production primaire, alors que ces systèmes sont extrêmement productifs (autour de $20\text{--}30 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$) ce qui constitue en soi un paradoxe (Lata et al, 1999). Il a été suggéré il y a une quarantaine d'années que les Graminées, en particulier les espèces appartenant aux Andropogoneae, pouvait inhiber la nitrification par l'exsudation de composés allélopathiques par les racines (Rice & Pancholy 1972). Cette hypothèse avait été cependant au centre d'une controverse pendant de nombreuses années en raison de l'absence de preuves *in situ* de l'implication de plantes dans l'inhibition de la nitrification. Les études menées au sein de l'écosystème de savane de la station de Lamto en Côte d'Ivoire, ont permis à partir des années 1990 de mettre en évidence pour la première fois de façon claire le contrôle par les Graminées pérennes de la nitrification, ce qui permet en retour une meilleure conservation des nutriments et donc une plus grande production primaire. Différents travaux (Lata et al, 1999, 2000, 2004; Boudsocq et al, 2009, 2012) ont montré que les différentes espèces de Graminées présentes, mais également de ligneux, contrôlaient vraisemblablement par différentes exsudations racinaires les flux d'N dans les sols allant de l'inhibition sévère à la très forte stimulation, laissant entrevoir des patterns liant diversité épigée des plantes et fonctionnement biogéochimique de l'écosystème à l'échelle du paysage.

Cependant à l'époque (fin des années 1990), les outils moléculaires et génétiques étaient peu développés et ne permettaient pas de décrire précisément ni la diversité totale ni la diversité fonctionnelle des microorganismes. Egalement, les bactéries nitrifiantes étaient difficilement cultivables. Depuis, une équipe japonaise (Subbarao et al, 2012, 2013) et ses collaborateurs ont réussi à démontrer par quels mécanismes l'inhibition de la nitrification (*maintenant appelée BNI – Biological Nitrification Inhibition*) pouvait être mise en œuvre par certaines plantes, et quels étaient les déterminismes génétiques sous-jacents – et déposé des brevets. Maintenant que des outils moléculaires de séquençage haut-débit comme le pyroséquençage existent et que la situation politique est stabilisée en Côte d'Ivoire, il se trouve une occasion unique de déterminer au niveau du paysage les liens entre diversité végétale épigée, diversité microbienne hypogée et fonctionnement du cycle de l'N.

A partir d'échantillons de sols prélevés en 2014, le stage s'intéressera particulièrement à quantifier la composition (par analyse des ratios nirK/nirS et AOA/AOB) et de l'abondance des communautés du cycle de l'N émettant du N_2O (dénitrification (nirK, nirS, nosZ) et nitrification (AOA+AOB)) par qPCR (avec 16S bactérien et Crenarchaea). La biomasse moléculaire microbienne sera également évaluée par mesure de la quantité d'ADN.

Boudsocq S., A. Niboyet, J. C. Lata, X. Raynaud, N. Loeuille, J. Mathieu, M. Blouin, L. Abbadie, S. Barot. 2012. Plant preference for ammonium versus nitrate: a neglected determinant of ecosystem functioning? *The American Naturalist*, 180(1):60-69

Norton, J. M., Alzerreca, J. J., Suwa, Y., and Klotz, M. G. (2002). Diversity of ammonia monooxygenase operon in autotrophic ammonia oxidizing bacteria. *Arch. Microbiol.* 177, 139–149

Leninger, S., Urich, T., Schloter, M., Schwark, L., Qi, J., Nicol, G. W., Prosser, J. I., Schuster, S. C., and Schleper, C. (2006). Archaea predominate among ammonia-oxidizing prokaryotes in soils. *Nature* 442, 806–809

Schlesinger, W. H. (2009). On the fate of anthropogenic nitrogen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106, 203–208

Lata J.C., Degrange V., Raynaud X., Maron, P.-A., Lensi R. & Abbadie L. 2004. Grass populations control nitrification in savanna soils. *Functional Ecology* 18, 605-611

Lata J.C., Guillaume K., Degrange V., Abbadie L. & Lensi R. 2000. Relationships between root density of the African grass *Hyparrhenia diplandra* and nitrification at the decimetric scale: an inhibition-stimulation balance hypothesis. *Proceedings of the Royal Society, London ser. B* 267, 595-600

Lata J.C., Durand J., Lensi R. & Abbadie L. 1999. Stable coexistence of contrasted nitrification statuses in a wet tropical savanna ecosystem. *Functional Ecology* 13, 762-768

Rice, E.L. & Pancholy, S.K. 1972. Inhibition of nitrification by climax ecosystems. *American Journal of Botany* 59, 1033-1040

Boudsocq S., J.C. Lata, J. Mathieu, L. Abbadie, S. Barot 2009. Modelling approach to analyse the effects of nitrification inhibition on primary production. *Functional Ecology*, 23, 220–230

Subbarao G.V., K.L. Sahrawat, K. Nakahara, I.M. Rao, M. Ishitani, C.T. Hash, M. Kishii, D. Bonnett, W.L. Berry, and Lata J.C. 2013. A paradigm shift towards low-nitrifying production systems: the role of biological nitrification inhibition (BNI). *Annals of Botany, Special Issue, Matching roots to their environment: lessons from physiological ecology and agriculture, invited paper*, 112(2):297-316

Subbarao G.V., Sahrawat K.L., Nakahara K., Ishikawa T., Kishii M., Rao I.M., Hash C.T., George T.S., Rao P Srinivasa, Nardi P., Bonnett D., Berry W., Suenaga K. & Lata J.C. 2012. Biological Nitrification Inhibition (BNI) - A Novel Strategy to Regulate Nitrification in Agricultural Systems. *Advances in Agronomy*, Vol. 114, 249-302