



Première journée de l'atelier transversal « SOLS » de l'OSUG

LECA : Plateforme d'analyses environnementales

Responsable Scientifique : JC. Clément

Responsable Technique : MP. Colace

C. Arnoldi



Laboratoire d'Ecologie Alpine (LECA)

- Recherches liées au fonctionnement des écosystèmes, au maintien de la biodiversité pour tenter de prédire leurs réponses aux changements globaux (climatique, usage des terres, pollution chronique...)
- Les échelles d'études vont des gènes aux populations jusqu'aux écosystèmes et aux paysages.
- Le laboratoire axe ses recherches sur les écosystèmes alpins
- Quatre équipes :
 - EMABIO** : Evolution, Modélisation et Analyse de la Biodiversité.
 - FYSE** : Fonctionnement, dYnamiques et Services des Ecosystèmes.
 - GBA** : Bases Génétiques de l'Adaptation.
 - P3E** : Pollution, Environnement, Ecologie et Ecoremédiation.

Plateforme d'analyses environnementales

- **Mesures environnementales** (lumière, température, humidité des sols...)
- **Mesures de traits** (taille des feuilles, épaisseur..)
- **Préparations des sols** (séchage, broyage, tamisage...)
- **Analyses de base** (pH, densité, teneur en matière organique...)
- **Analyses chimiques**

Analyseur Élémentaire Carbone Azote (Flash EA 1112)



Passeur automatique

Piégeage de l'eau

- 1) Combustion « Flash » de l'échantillon
- 2) Oxydation catalytique
- 3) Réduction des NO_x en N_2
- 4) Piégeage de l'eau
- 5) Séparation chromatographique
- 6) Détection

Oxydation
catalytique

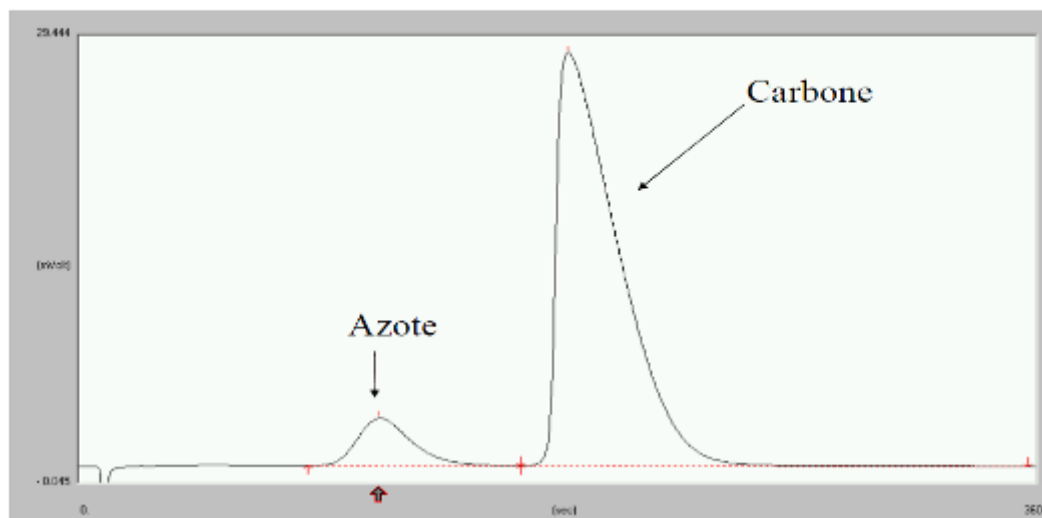
Réduction des
 NO_x

colonne

Détecteur

Analyseur Élémentaire Carbone Azote (Flash EA 1112)

Acide aspartique – 4,5 mg



Référence	%N	%C
A1	2,1681795	43,804314
A2	1,8067009	43,780376
A3	2,5369639	43,167381
A4	2,3829162	41,98798
A5	2,0879393	41,673561
A6	2,8589158	43,123333
A7	2,0714998	43,513725
A8	1,5028306	43,716141
A9	1,3610635	43,424103
A10	1,5111536	43,963959

Standard : acide aspartique

Limite de mesure : 0.01 – 60 % C & N

Incertitude sur la mesure liée essentiellement à la pesée.

Chaîne colorimétrique à flux continu

Bloc contenant : bain-marie, colonne de cadmium, pompe péristaltique

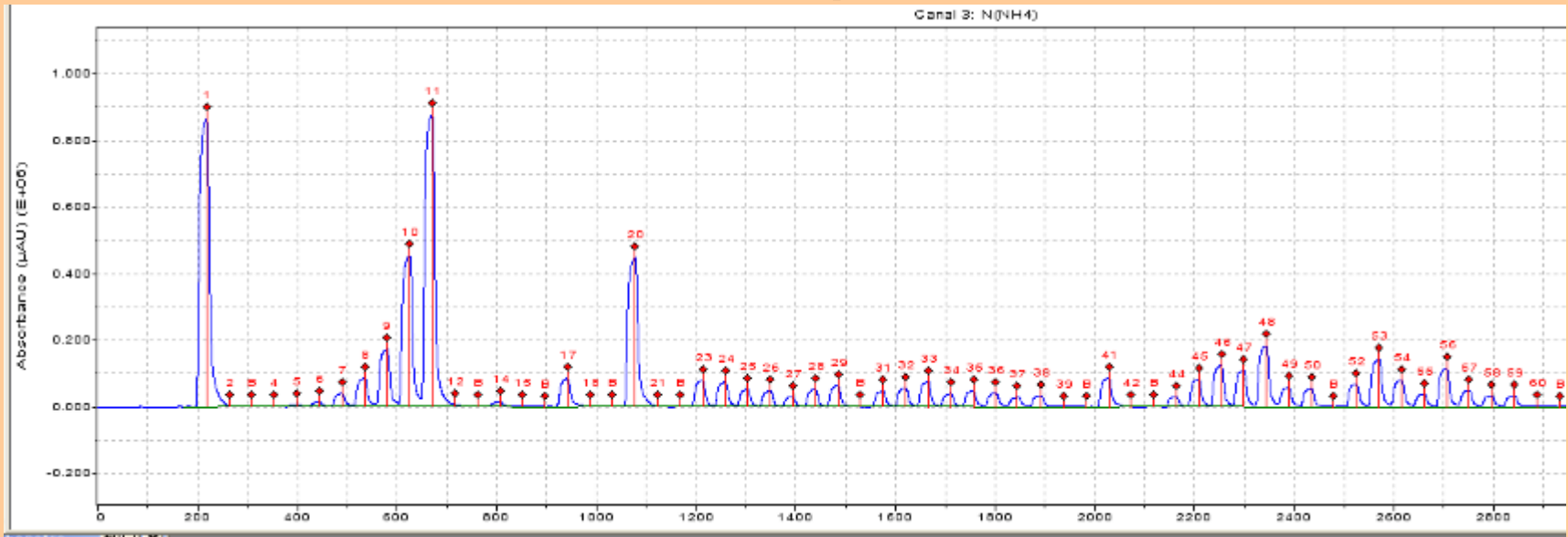
Passeur automatique



DéTECTEURS

- 1) Circuit indépendant pour les nitrites/nitrates et pour l'ammonium
- 2) Prélèvement de l'échantillon
- 3) Réaction avec les différents réactifs pour donner un complexe coloré
- 4) Mesure spectrophotométrique de ces complexes

Chaîne colorimétrique à flux continu



Intérêt de cette technique :

- détermination des concentrations en nitrite (NO_2), nitrate (NO_3), ammonium (NH_4), azote organique dissous (**DON**), azote total dissous (**TDN**).
- détermination de la **Biomasse microbienne**, de la **Minéralisation potentielle de l'azote** et du **lessivage de l'azote**.

Différentes matrices : KCl, K_2SO_4 , eau

Limite de mesure : 0.002 à 2 mgNH_4/l , 0.1 à 100 mgNO_3/l et 0.005 à 2 mgNO_2/l

A venir : analyses phosphore total et orthophosphates

Metabarcoding

Identification des espèces par l'ADN

- Protocole expérimental
 - Echantillonnage sur le terrain (sol, eau, feces, etc.)
 - Extraction d'ADN extracellulaire
 - Amplification (amorces spécifiques)
 - Séquençage massal des produits de PCR (séquenceurs nouvelle génération)
 - Identification des taxa (MOTUs) par rapport à une base de référence
- Possibilité d'une évaluation assez complète de la biodiversité à partir d'un seul extrait d'ADN





DNA metabarcoding



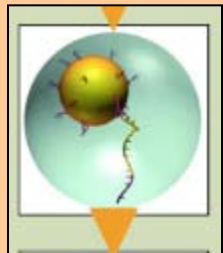
- Works extremely well for diet analysis using feces as a source of DNA
 - For herbivores
 - For carnivores
 - Can be adjusted for other type of diet



- **Works well for plant biodiversity using soil samples**
 - **In the Arctic (Suède)**
 - **In the temperate region (Grenoble et Lautaret)**
 - **In the tropical region (Guyane)**
- Need to be further adjusted for animal biodiversity using soil samples
 - Optimistic for animals with high biomass (earthworms, etc.)
 - Might be problematic for animals with low biomass

Métatranscriptomique

un regard sur les fonctions biochimiques œuvrant dans le sol



Sol

ARN

ARN polyA+

cDNA

Séquencage
NGS

cDNA fragments

```
>F1IP2S103GXZIZ length=487 xy=2730_1417 region=3 run=R_2009_08
TGGTATCAACGCAGAGTACGGGGAGATTTCATATCTAAATCCCATTAAAAACAAAATAAGC
ATCTAATTTTAAATGCCAAAGGAAAAGATCCATATTAACCTTAGTCGTTCATTTGGTCATGTC
GACTCCGGTAAATCAACCTCCACTGGTCATTTAATCTACAAATGCGGTGGTATCGATAAA
AGAACCATTGAAAAATTCGAGAAAAGAAGCCAACGATATGGGTAAAGGTTCAATCAAAATAT
GCTTGGGTTTTGGACAACTCAAGGCTGAAAAGAGAAGAGGTATTACCATCGATATTTTC
CCTCTGGAAATTCGAATCACCAAAATACTACTTCACCATCATTGATGCCCCAGGACACAG
AGATTTTATCAAGAACATGATTACAGGTACATCCCAAGCTGATTTGTCTATTCTTATGAT
TGCTTCACCACAAGGTGAGTTTCGAAGCTGGTATTTCCAAGGAAGGCCAAACCAGAGAACA
TGCACTT
>F1IP2S103GZ6GQ length=397 xy=2755_1320 region=3 run=R_2009_08
AAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTAGGGGCAGGGAGATTTAGTCAAGGTTCCACAACACTC
AGTCCAATCAAATGATATCTGAGTTCGTAATGAGGTGGTACTCTTCCAAGGCTACAGAT
CAAAGGTTGCTCTGGGCTAACACAGAGAGCTTGCAATGAAGTTTTGCTGGACCACAGTG
CTGATGTACTAGTTCCTCTAGTTCAAATGTTTGATTAATGAACCTGTTTGTGATTAG
GTATAATTTTAGTGTGTTGGAATTAGCTAATGTAATTTGATATGAAAATGTGGTATT
ATTATGTGTTATTTAGTGAAATTTGAATGTAATGCGGAATTAATATGAAAAATTTCTA
TTGATATTTGAATTAGTGATACTACAAAAA
>F1IP2S103HBLDW length=33 xy=2885_1394 region=3 run=R_2009_08_
AAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTACGGTTTTTTT
>F1IP2S103G715H length=470 xy=2845_0339 region=3 run=R_2009_08
TCTCCGACTCAGACGAGTGCCTAAGCAGTATGATCAACGCAGAGTACGGGGACAACCAA
ATTACATAAACCATTCAAATAATAAAACAAAATCCAAACAACAAAGCAAAAATGAATTT
CTCTCAAATCTTCTACTCTCTCTTTTTCACCTTTGTTATTCACCATGGCCATGAGTGG
TCCCGGTGCAAAGGCCGCCCAAATGCTGCCCTGATGCCAAGGCCACGGCTACTACCA
CCATTACGATCCATCATACTGTCACGGTCACAGTCACTGACTATATCACAACTACTGTATA
TGAAAAATCCCTTATTATTATATCATAAATCTTATTAGACAAATCATTTTATTCTGTA
ATATGAGGTCTAAAAATCTTTCGTGGAAATTTAAAAATTTTAAATTTAAATTAATGAA
ATTGTTATGTAATTTTCAACAGCTGTTATAAAGTTCATTTTAATTTAAT
```

... 10⁵ to 10⁷ lectures

Bases de
données ADN

≈ gène X

≈ gène Y

?

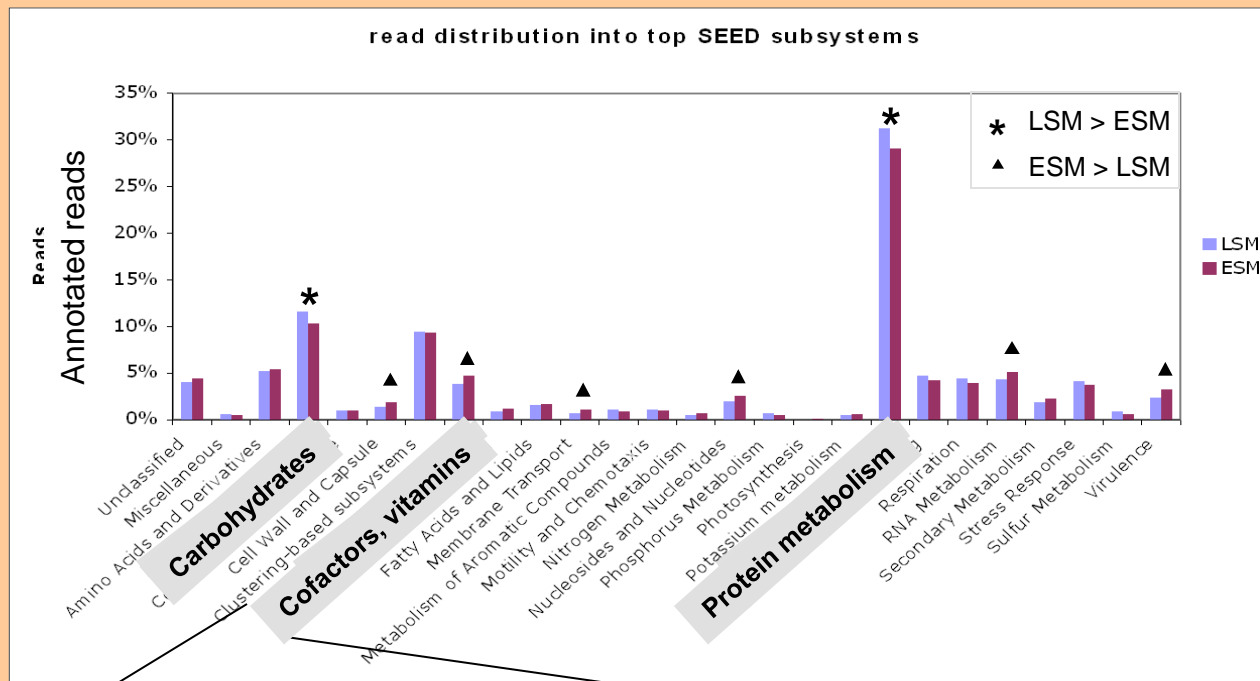
...

classification

Profil fonctionnel
du sol

Comparaison des profils d'expression de deux sols :

Exploration d'une classification hiérarchique des fonctions des gènes



subsystem 1	subsystem 2	subsystem 3	LSM reads	ESM reads	% LSM	% ESM	p-value
Cofactors, Vitamins			307	302	3.8%	4.7%	0.02
	Lipoic acid	Lipoic_acid_metabolism	5	15			0.01
	Thiamine	Thiamin_biosynthesis	9	20			0.007
	Tetrapyrroles	Coenzyme_B12_biosynthesis	1	8			0.01
SEED_annotations			8029	6474	100%	100%	
Putative mRNA reads			50035	39064			

La biosynthèse
des vitamines
est plus active
dans le sol ESM

Merci pour votre attention

