

Programme de recherche Agroscope «Biodiversité microbienne»

Les programmes de recherche Agroscope (PRA) ont pour but d'encourager de manière ciblée des domaines de recherche particulièrement importants et prometteurs pour l'avenir. Ils tiennent compte du rôle de plus en plus grand de la recherche interdisciplinaire et ont pour objectif de renforcer le transfert des résultats de la recherche fondamentale à la recherche appliquée axée sur la résolution de problèmes afin d'obtenir une utilité pratique concrète pour l'agriculture et l'agroalimentaire suisse.

Description du programme

1. Bref descriptif: un monde rempli de microorganismes



Figure. 1: La terre avec tous ses écosystèmes, habitats et la vie qui s'y adapte. Photo prise d'Apollo 17 le 7 décembre 1972 (Wikipedia).

La biodiversité englobe la diversité des écosystèmes dans le monde et tous les organismes qui y vivent; elle se confronte également aux interactions au sein des systèmes et entre eux. Les microorganismes sont les êtres vivants qui affichent la plus grande diversité. Ils jouent un rôle fondamental dans tous les écosystèmes. Les microorganismes étant, comme leur nom l'indique, d'une taille microscopique, ils sont très difficiles à étudier et à décrire. Il n'y a que très peu d'espèces dont on connaisse précisément les fonctions. La plupart des espèces sont encore inconnues ou peu étudiées. Ces dernières années, de nouvelles méthodes d'analyse génétique se sont imposées qui permettent d'une part, de décrire l'ensemble des microorganismes de différents écosystèmes, ce qu'on appelle le microbiome et d'autre part, de déchiffrer le patrimoine génétique (génome) des souches microbiennes afin d'en tirer de premiers indices sur leurs fonctions.

Le PRA Biodiversité microbienne a pour but d'étudier et de décrire les microbiomes et les fonctions des microorganismes de trois écosystèmes importants pour l'agriculture et la filière alimentaire. Ces écosystèmes sont traités en trois volets dans le cadre d'une collaboration interdisciplinaire des chercheurs des différents instituts d'Agroscope (cf. chapitre 7, CONTACTS). Le **volet 1** concerne le microbiome du sol et ses multiples fonctions dans l'agriculture. Le **volet 2** analyse le microbiome des plantes. Ces dernières forment un groupe de produits centraux dans l'agriculture, et interagissent de manières très diverses avec les microorganismes. Ce volet doit permettre d'identifier les microorganismes qui exercent une influence favorable sur les plantes et réduisent par exemple leur infestation par les agents pathogènes. Le **volet 3** analyse les microbiomes des produits laitiers fermentés, un groupe de produits agricoles important en Suisse. Un **quatrième volet** supplémentaire consistera à mettre en place un réseau Agroscope pour la génomique et la bio-informatique (ANET-GB), dont l'objectif sera d'assurer et de développer le savoir-faire méthodologique pour la recherche Agroscope. La compétence du diagnostic de génétique moléculaire sera ensuite étendue à d'autres domaines à moyen terme, par-delà le cadre microbien.

2. PROBLEMATIQUE: la biodiversité microbienne des écosystèmes importants pour l'agriculture est une grande inconnue

L'immense valeur de la biodiversité a été reconnue depuis longtemps : en 2008, le Parlement suisse a été amené à demander l'élaboration d'une «Stratégie Biodiversité Suisse». La stratégie a été approuvée par le Conseil fédéral le 25 avril 2012 [1]. Jusqu'ici, les microorganismes, qui représentent pourtant le plus divers de tous les groupes, n'ont pratiquement pas, voire pas du tout, été pris en compte dans la «Stratégie Biodiversité Suisse».

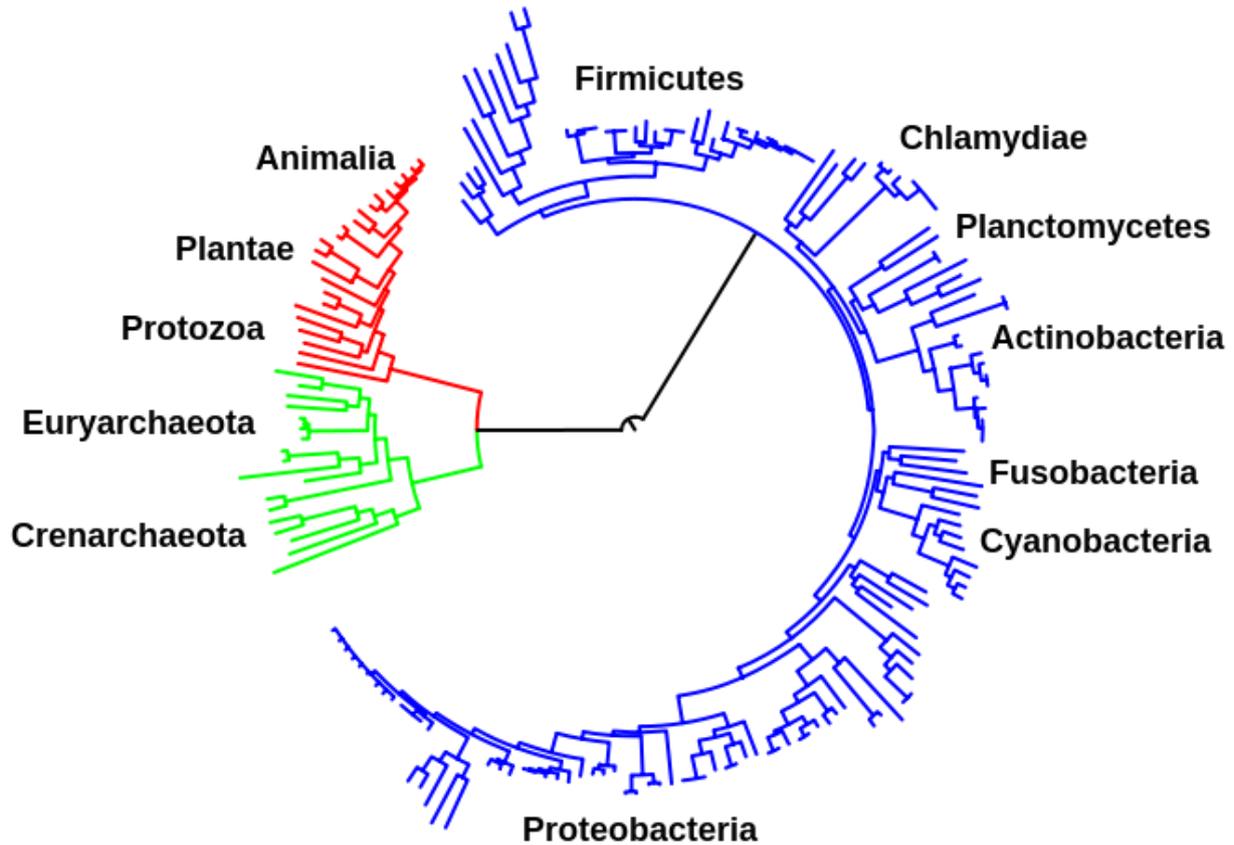


Figure 2: L'arbre de la vie selon Ciccarelli *et al.* (2006) [2]. Les couleurs permettent de distinguer trois domaines dans lesquels sont répartis tous les êtres vivants: les bactéries (en bleu), qui appartiennent aux procaryotes, ainsi que les eucaryotes (en rouge). Cet arbre montre quelle part considérable les microorganismes occupent dans la diversité de la vie sur terre, notamment par rapport aux organismes supérieurs.

D'une taille de l'ordre du micromètre, ce qui les rend invisibles à l'homme, les microorganismes échappent souvent à notre attention. En les analysant de plus près, on constate cependant qu'ils sont omniprésents et nombreux. Ainsi, le corps humain contient près de 10 fois plus de bactéries qu'il n'a de cellules (10^{13}) et un gramme de sol peut abriter 10 milliards (10^{10}) de microorganismes – soit autant qu'il y a d'hommes sur la terre. Des êtres vivants qui existent en nombre aussi incroyable et depuis si longtemps sur la terre – les premiers microorganismes existaient déjà il y a des milliards d'années – ne peuvent que jouer un rôle fondamental. En effet, on connaît plusieurs processus dans lesquels les microorganismes jouent un rôle. Ce sont par exemple les premiers responsables de la décomposition du matériel organique dans le sol, tout comme des cycles d'éléments nutritifs, qui influencent considérablement la croissance des plantes. Depuis des milliers d'années, les microorganismes sont utilisés dans des processus biotechnologiques pour fabriquer des denrées alimentaires ou mettre en valeur des produits agricoles bruts. Les derniers résultats de recherche ont montré que la biodiversité des microorganismes était très élevée et que nous n'en connaissons qu'une petite (infime ?) partie, sans parler de l'utiliser à notre profit. L'étude de la biodiversité microbienne fournit les connaissances nécessaires pour utiliser de manière ciblée les microorganismes présents dans la nature au service d'une agriculture et d'une filière alimentaire durables. Par exemple, l'épandage de quelques champignons du sol est déjà utilisé pour contrôler à long terme et de manière ciblée certains insectes ravageurs [3]. Des microorganismes associés aux plantes peuvent aussi empêcher des maladies, stimuler la croissance ou augmenter les rendements en mobilisant les éléments nutritifs [4]. Dans le domaine de la fabrication du fromage, on a ainsi pu montrer que l'utilisation d'une morge composée d'un grand

nombre de microorganismes antagonistes, contribuait à améliorer la sécurité des denrées alimentaires (inhibition des listérias) [5]. Pour atteindre cet objectif à long terme, il faut toutefois d'abord identifier les principaux acteurs des écosystèmes importants pour l'agriculture et l'agroalimentaire, car les variations de leur composition, de leur quantité ou de leur activité peuvent avoir un impact majeur sur les écosystèmes complexes.

Jusqu'ici, l'identification des microorganismes d'un écosystème souffrait d'un gros handicap: les méthodes de culture classique ne permettaient d'isoler et de décrire qu'une très petite partie des microorganismes (parfois seulement 1% env.). La majorité des microorganismes est considérée comme impossible à cultiver et a donc longtemps échappé à toute description. Ce n'est qu'avec les méthodes de biologie moléculaire récentes que les gènes des microorganismes non cultivables ont pu être isolés et décrits. Ces «empreintes génétiques» ont montré que les microorganismes avaient une biodiversité insoupçonnée, qu'ils vivaient dans les habitats les plus divers et qu'ils y occupaient des positions clés. Dans le domaine de la médecine humaine, de grands progrès ont déjà été faits dans la description du microbiome humain. Le rôle de la composition du microbiome aussi bien dans l'apparition de maladies (p. ex. cancer de l'intestin, obésité, maladies cardiaques et vasculaires) que dans la protection contre d'autres affections (p. ex. diarrhées causées par des bactéries) a pu être prouvé [6]. Bien que l'on dispose de premiers résultats sur divers systèmes environnementaux, il reste encore beaucoup à faire. Les méthodes d'analyses actuellement disponibles permettent également d'étudier les microbiomes des systèmes agricoles et agroalimentaires et de déterminer les communautés microbiennes associées. Partis d'une grande inconnue, les chercheurs s'approchent progressivement d'une utilisation ciblée dans les systèmes agricoles et agroalimentaires.

3. OBJET ET OBJECTIFS: étude des microbiomes dans des écosystèmes sélectionnés de l'agriculture et de l'agroalimentaire

Dans le cadre du programme de recherche «Biodiversité microbienne», Agroscope a recours à une technologie de pointe pour approfondir les connaissances sur la diversité microbienne dans des écosystèmes sélectionnés de l'agriculture et de l'agroalimentaire. L'accent est mis sur les domaines où les microorganismes jouent un rôle central mais où de nombreux détails sont inconnus. Le programme de recherche comprend quatre objectifs principaux, traités dans quatre volets séparés:

Le volet «Microbiome du sol» a pour but d'étudier la biodiversité microbienne dans différents sols et systèmes représentatifs de la Suisse et de son agriculture, afin de mieux comprendre les interactions entre le type de sol, son utilisation et les microorganismes qui y vivent. Le but est de pouvoir utiliser ces informations pour mieux évaluer et améliorer la qualité des sols.



Figure 3: Dans le cadre d'un essai DOK mis en place à Therwil (BL) en 1978, Agroscope et le FiBL collaborent pour comparer différents systèmes culturaux biologiques et conventionnels. L'impact de l'influence à long terme des systèmes culturaux sur les communautés microbiennes du sol fait l'objet de recherches actuelles et sera également étudié dans le cadre du PRA «Biodiversité microbienne» (Photo: Agroscope & FiBL).

Le volet «Microbiome des plantes» étudie la biodiversité microbienne du ray-grass, des pommes de terre et des pommes à la surface de la plante. L'analyse se concentre sur l'effet du microbiome naturel sur la protection des plantes contre les ravageurs et les agents phytopathogènes et leur stabilité face aux influences environnementales ou anthropogènes. Le but est d'optimiser de manière ciblée le microbiome des plantes pour inhiber l'action des agents pathogènes.

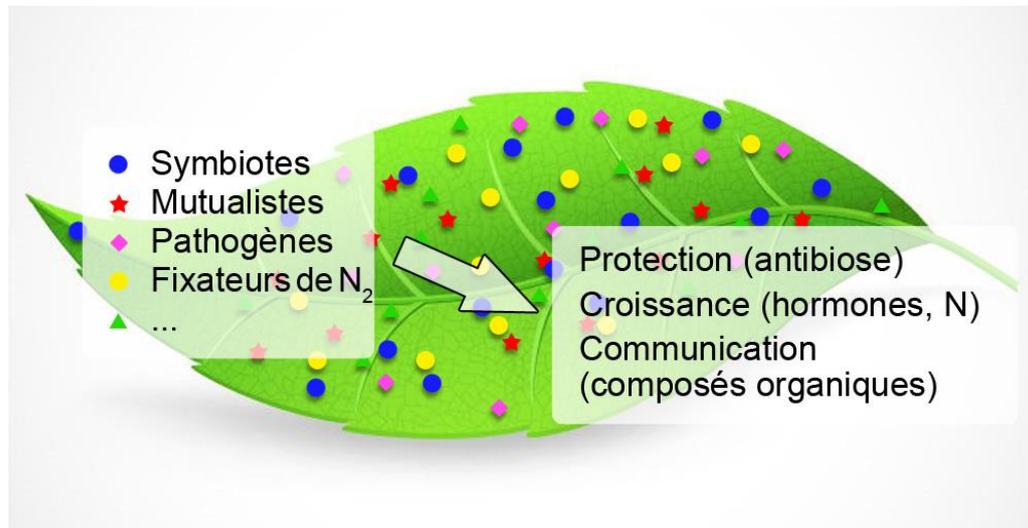


Figure 4: Microorganismes associés à la plante et leurs fonctions dans la plante et l'écosystème (modifié selon [7]).

Le volet «Microbiome des aliments fermentés» consiste à analyser la biodiversité représentée dans la collection de souches d'Agroscope (Liebefeld, Wädenswil) et celle de l'écosystème «fromage au lait cru», ainsi que d'étudier les procédés microbiens et biochimiques de la maturation du fromage et les interactions des différentes espèces de bactéries dans les différents types de fromages au lait cru. L'objectif est de pouvoir sélectionner des bactéries pour la fabrication de produits laitiers fermentés, afin que les fromagers puissent produire des fromages au lait cru de première qualité en réduisant les coûts et les mauvaises fermentations et qu'ils puissent proposer aux consommateurs des produits laitiers fermentés sûrs et de grande diversité aromatique.

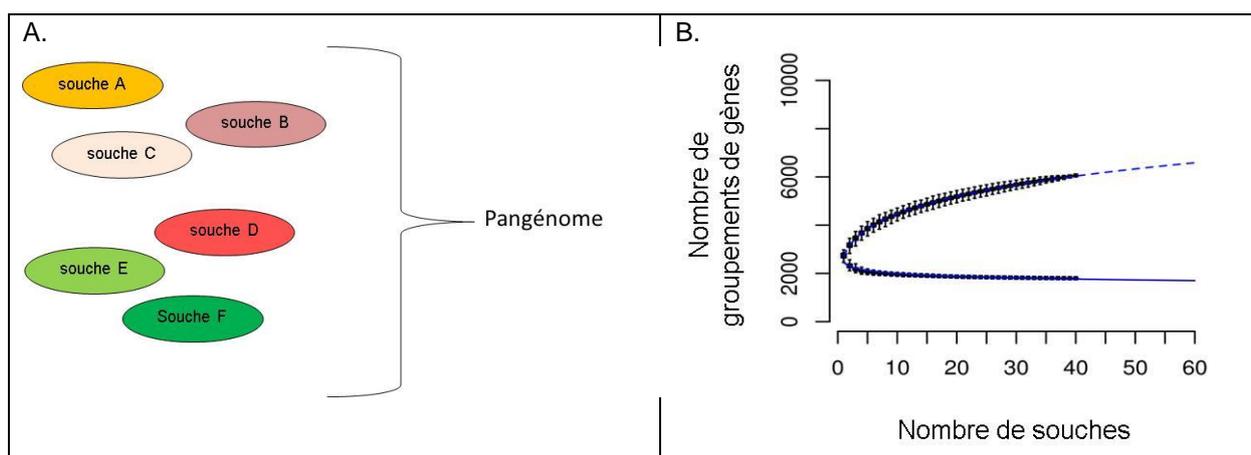


Figure 5. Pangénoème de *Lactobacillus casei*. Une hypothèse veut que les bactéries répartissent la totalité de leurs gènes sur plusieurs souches (figure 5A) et qu'ainsi les gènes soient acquis et perdus par les générations. Le séquençage de différentes souches de *L. casei* issues de la collection d'Agroscope a mis sans cesse à jour de nouveaux gènes (figure 5B). La ligne en pointillés indique la somme de tous les gènes (le pangénoème), qui ont été identifiés à chaque nouveau séquençage du génome d'une souche de *L. casei*. La ligne pleine symbolise le nombre de gènes présents ensemble dans toutes les souches. Les recherches confirment que la somme de tous les gènes de cette espèce est effectivement répartie sur des souches individuelles. L'importance de cette diversité génomique des bactéries lactiques pour les denrées alimentaires fermentées sera étudiée de manière approfondie dans le présent PRA.

Le volet «Génomique et bio-informatique» est consacré à la mise en place d'un réseau d'experts à Agroscope et de l'infrastructure correspondante. L'objectif est de pouvoir mettre à disposition des projets d'Agroscope l'infrastructure nécessaire au traitement des données et de pouvoir coordonner de manière optimale la planification, l'exécution et l'analyse de données dans le cadre de projets de collaboration. Il s'agit en outre de développer de nouvelles approches pour l'analyse et l'intégration des données.

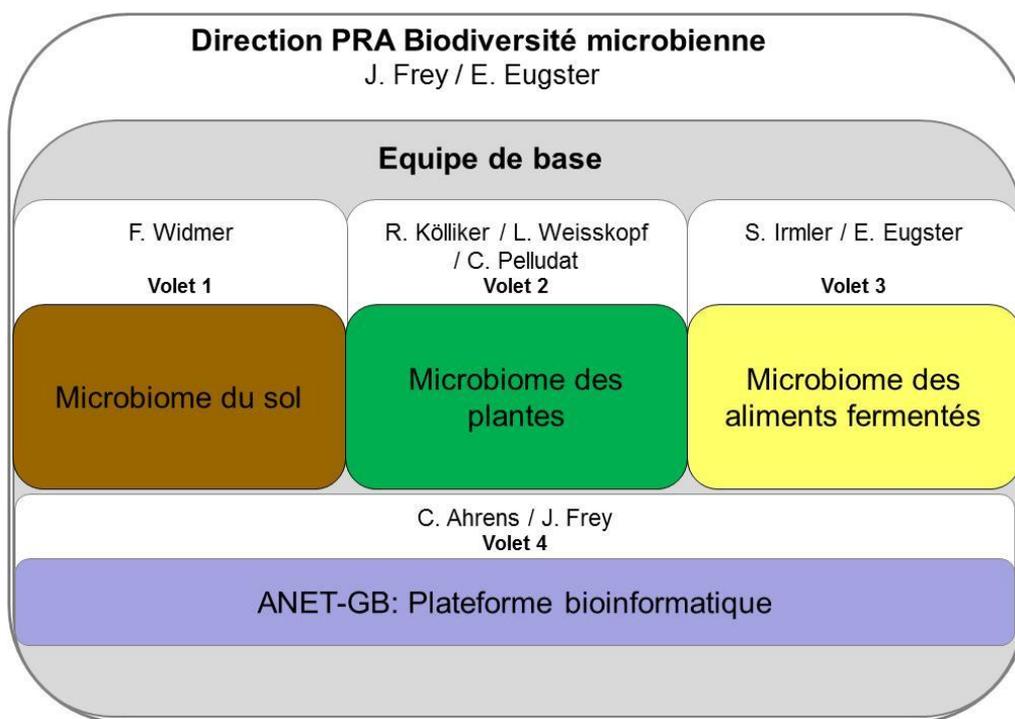


Figure 6: Structure organisationnelle du PRA Biodiversité microbienne

4. METHODES: séquençage du génome – la méthode de choix

Grâce à la rapidité de l'évolution technologique ces dernières années, le diagnostic de biologie moléculaire est aujourd'hui en mesure de déchiffrer des génomes entiers en très peu de temps et à des prix toujours plus compétitifs, ou d'identifier les microorganismes d'un écosystème. Les méthodes de déchiffrement massif de l'information génétique, le NGS (Next Generation Sequencing) permettent de déterminer l'ordre des différents composants d'un ADN. Cela donne à la recherche le gros avantage de pouvoir caractériser des communautés microbiennes dans les systèmes sélectionnés (sol, plantes et denrées alimentaires fermentées) à l'échelle du patrimoine génétique grâce au séquençage génomique (ADN-Seq), et de pouvoir identifier et quantifier les gènes les plus importants à l'échelle des gènes actifs, exprimés grâce au séquençage transcriptomique (ARN-Seq). Grâce à ces méthodes, il est également possible de déchiffrer la complexité des communautés microbiennes (séquençage du métagénome), de décrire leurs activités dans les différents écosystèmes et de reconnaître les éventuels changements. C'est la base pour identifier les fonctions spécifiques des microorganismes dans les différents systèmes agricoles et agroalimentaires, pour pouvoir les utiliser, les promouvoir et les contrôler de manière ciblée.

5. STRUCTURE DU PROGRAMME: les étapes suivantes sont prévues

Le programme de recherche Agroscope «Biodiversité microbienne» se consacrera d'abord à l'établissement de la technologie NGS et aux procédés d'analyse nécessaires à l'évaluation des don-

nées générées (à partir du lancement du programme jusqu'à l'automne 2015 environ). Le prélèvement d'échantillons dans les systèmes sélectionnés et l'isolement des ADN/ARN à étudier seront également des travaux prioritaires de la première phase.

La deuxième phase sera consacrée à l'identification, la détermination de la fréquence et de la répartition des différents microorganismes ou gènes, l'incidence des modifications de l'environnement et l'impact qui en résulte sur les écosystèmes (de l'automne 2015 jusqu'à l'automne 2017 environ). La troisième phase du programme de recherche (de début 2016 à la fin du PRA MikBioDiv au deuxième semestre 2018) portera sur l'application des résultats obtenus dans de premiers essais appliqués, par exemple en étudiant si des microorganismes isolés ou des combinaisons de microorganismes peuvent apporter une protection efficace contre les maladies ou permettre d'obtenir des denrées alimentaires de meilleure qualité.

6. RESULTATS ATTENDUS: une série d'autres questions...

Les données obtenues dans le cadre du programme de recherche «Biodiversité microbienne» servent de base pour utiliser, stimuler et optimiser de manière ciblée les microorganismes qui existent naturellement pour une agriculture naturelle et durable, ainsi que pour des produits agricoles sûrs et de première qualité. Les résultats relatifs à la biodiversité des écosystèmes sélectionnés servent de base de recherche à Agroscope ainsi qu'aux partenaires intéressés pour leurs travaux sur la biodiversité microbienne dans d'autres systèmes, par exemple pour les recherches sur la faune et la flore, l'entomologie ou la nématologie. Avec ces recherches, Agroscope associe directement une technologie de pointe aux exigences d'une agriculture moderne, durable et respectueuse de l'environnement.

7. CONTACTS: les principaux interlocuteurs

Prénom Nom	Tél.	E-mail (...@agroscope.admin.ch)	Institut Agroscope	Volet	Groupe Division
Jürg Frey	058 460 63 32	juerg.frey	IPV	AP4	12.3
Elisabeth Eugster	058 465 58 88	elisabeth.eugster	IDA	AP3	32
Stefan Irmeler	058 465 81 55	stefan.irmeler	IDA	AP3	38.1
Franco Widmer	058 468 73 76	franco.widmer	IDU	AP1	43.4
Martin Hartmann	058 468 71 22	martin.hartmann	IDU	AP1	43.4
Roland Kölliker	058 468 73 45	roland.koelliker	IDU	AP2	43.4
Laure Weisskopf	058 468 72 11	laure.weisskopf	IDU	AP2	42.4
Cosima Pelludat	058 460 64 02	cosima.pelludat	IPV	AP2	13.1
Christian Ahrens	058 460 61 14	christian.ahrens	IPV	AP4	12.3

IPV = Institut des sciences en production végétale; IDA = Institut des sciences en denrées alimentaires; IDU = Institut des sciences en durabilité agronomique

8. Bibliographie

[1] www.sib.admin.ch/de/biodiversitaetskonvention/nationale-umsetzung/nationale-biodiversitaetsstrategie/index.html

[2] Ciccarelli FD, Doerks T, von Mering C, Creevey CJ, Snel B, Bork P (2006). "Toward Automatic Reconstruction of a Highly Resolved Tree of Life", *Science*, 311: 1283-1287.
DOI:10.1126/science.1123061

[3] Enkerli J, Widmer F, Keller S (2004). Long-term persistence of *Beauveria brogniartii* strains applied as biocontrol agents against European cockchafer larvae in Switzerland. *Biological Control* 29:115-123

[4] Berg G, Grube M, Schlöter M, Smalla K. Unraveling the plant microbiome: looking back and future perspectives. 2014. *Frontiers in Microbiology*, 5:148.

[5] Roth E., Control of *Listeria* contamination on the surface of semi-hard cheeses by natural smear ecosystems and protective cultures, Diss. ETH Nr. 18644, Zürich 2009

[6] Cho I, Blaser MJ. The human microbiome: at the interface of health and disease. 2012. Nature Reviews Genetics, 13:260-270.

[7] Penuelas J, Terradas J. The foliar microbiome. 2014. Trends in Plant Science, 19:278-280.