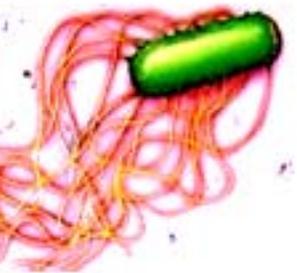


Analyses des communautés microbiennes : approches expérimentales, métagénomiques et cultivables

Pascal Mirleau & Philipp Heeb



& Evolution
Diversité Biologique
EDB

UMR 5174 CNRS / Université Paul Sabatier, Toulouse

UNIVERSITE
PAUL
SABATIER



TOULOUSE III

Relations oiseaux – bactéries :

un modèle d'interactions vertébrés-microorganismes,
dans une approche d'écologie évolutive.

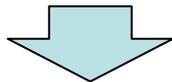


**Les oiseaux en tant
qu'hôtes**

Habitat

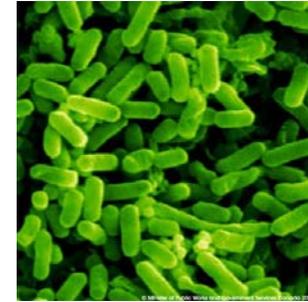
Maintien de microbes bénéfiques

Comportements sanitaire



Effets sur la fitness

(survie / reproduction / sélection sexuelle)

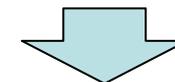


**Les microbes en tant que
pression de sélection**

île, métapopulations

Commensalisme

Parasitisme, pathogénie



Effets sur la transmission

horizontale de microorganismes

Comportement sanitaire : transmission horizontale de bactéries ?

(Le bain des oiseaux et la microflore de l'eau)

Questions: les oiseaux sont ils vecteurs de bactéries lors de la prise de bains ?

→ Quelles espèces bactériennes au sein de la communautés saprophytes de l'eau ?

→ Effets sur l'activité kératinolytique de l'eau ?

→ Bactéries commensales ou pathogènes ?



Bain d'eau : approche expérimentale

J10

J7

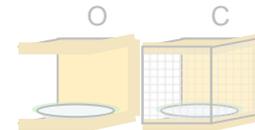
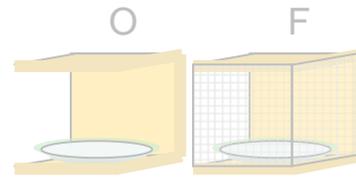
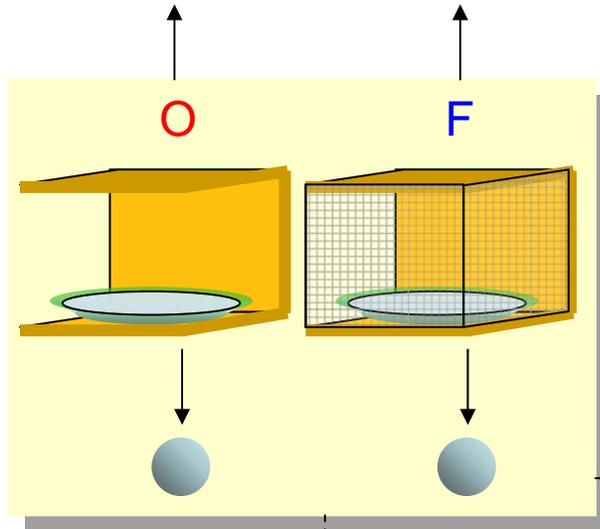
J5

J3

J1

J0

Pertes en eau, T°, pH, Conductivité



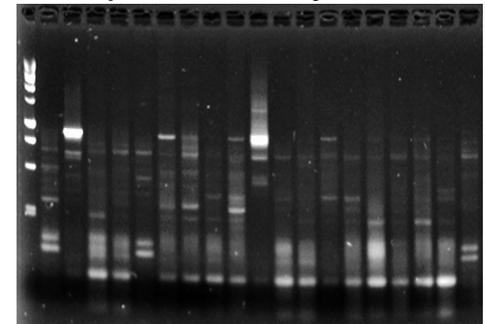
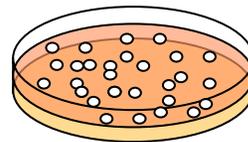
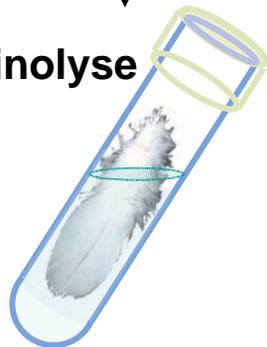
Filtration

extraction ADN

Kératinolyse

UFC
dénombrement

Ribosomal Intergenic
Spacer Analysis



Bains d'eau : résultats

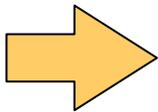
J 10

Physicochimie

	J 0	O	F	t-test
Temperature (°C)	27 **	22	21.7	NS
pH	7.0 **	7.5	7.5	NS
Conductivité (μS.cm ⁻²)	177 ^t	168	123	NS
Perte en eau (ml.jour ⁻¹)	-	167	93	0.02 *

Microbiologie

Bactéries + Champignons	0.9 **	5.4	3.2	0.001 **
Bactéries totales	0.8 **	5.4	3.2	0.001 **
Entérobactéries	0.0 **	3.3	1.6	0.05 ^t
[ADN]	0.2 **	1.3	0.4	0.01 *

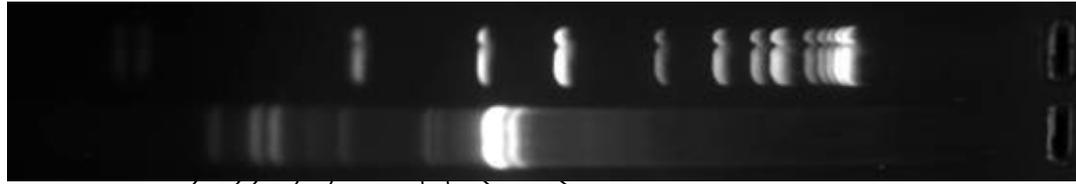


✓ Augmente les pertes en eau et l'abondance bactérienne de l'eau

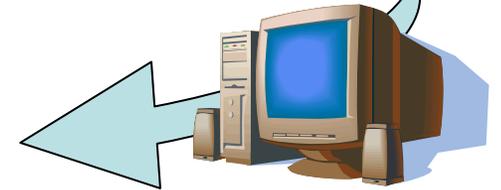
Bain d'eau : analyse des communautés bactériennes

Automated Ribosomal Intergenic Spacer Analysis (ARISA):

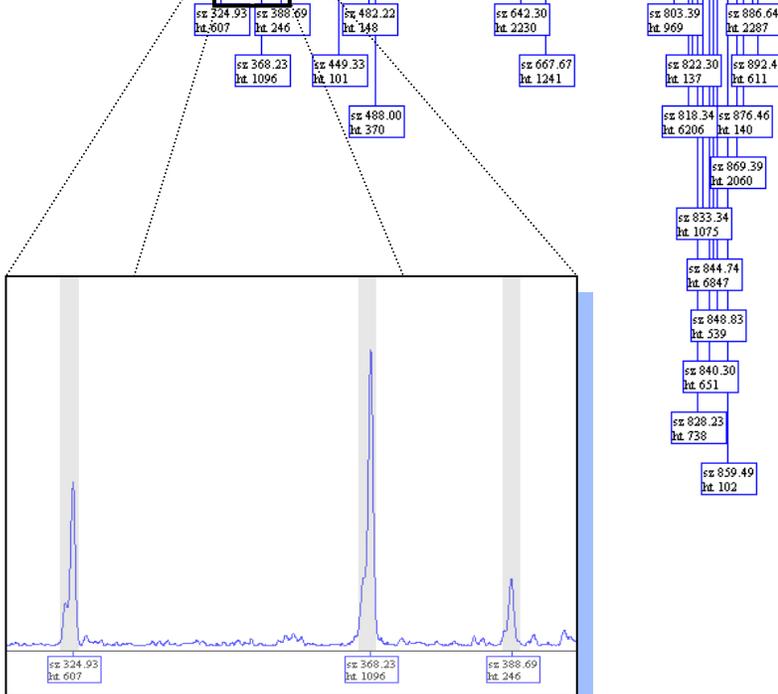
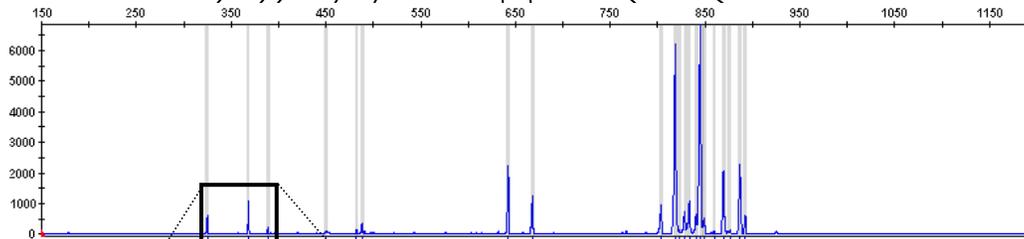
FAM-labelled PCR primers +
ROX-labelled MWM



Séquenceur capillaire



GeneMapper©

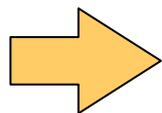


>> échelle de taille (OTU) : 150-1200 pb

>> discrimination des tailles : 2 à 5 pb

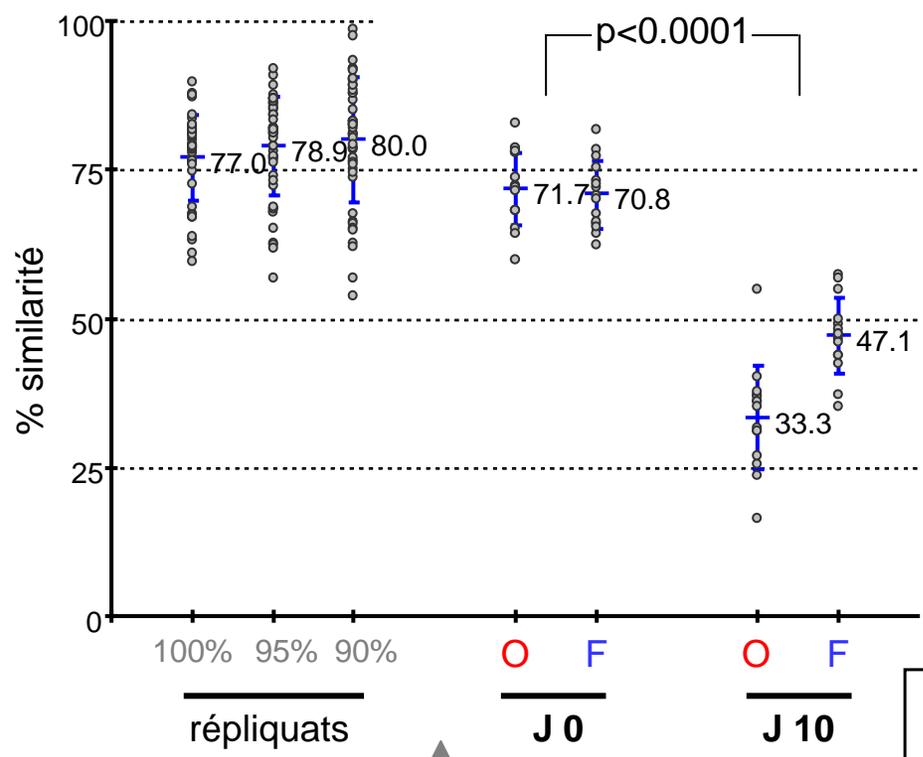
>> échelle d'intensités : 10 à $4 \cdot 10^4$ RFU

		J 10			
		J 0	O	C	t-test
Nombre total d'individus Log N = \sum intensités		4.2 *	4.8	4.8	NS
diversité α	Nombre d'espèces S = nombre d'OTUs	30	33	33	NS
	Shannon H = $-\sum (P_i \times \text{Log } P_i)$	1.12 ^t	1.07	1.00	NS
	Simpson $1-\lambda = 1-\sum P_i^2$	0.88 ^t	0.86	0.83	NS
	Pielou J = H / Log S	0.76 *	0.72	0.67	NS



☒ N'affecte pas le nombre d'espèces bactériennes total de l'eau

Bain d'eau : analyse des communautés bactériennes



diversité β
similarité entre communautés

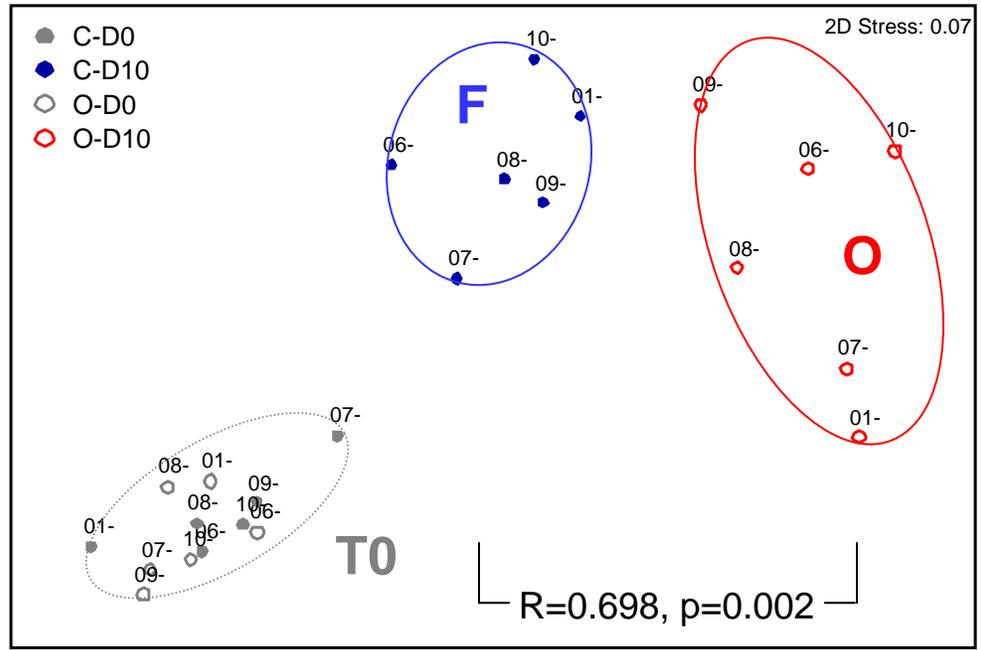
$$\text{Bray-Curtis } S_{jk} = 100 \left\{ 1 - \frac{\sum_i |y_{ij} - y_{ik}|}{\sum_i (y_{ij} + y_{ik})} \right\}$$

p < 0.0001

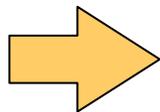
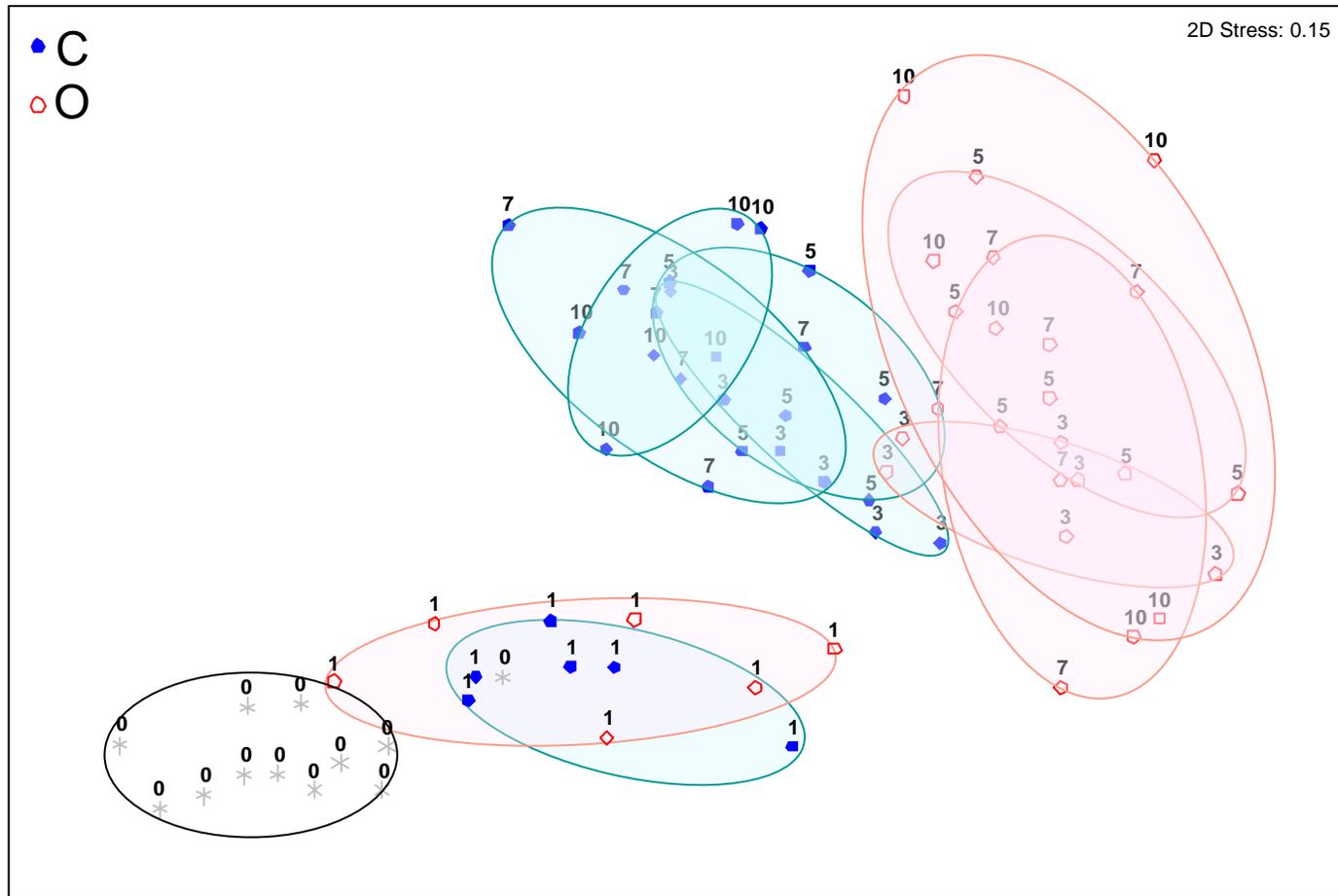
R = 0.938, p = 0.001

Statistiques descriptives
Analyse de variance (ANOVA)

NMDS
Analyse de similarité (ANOSIM)



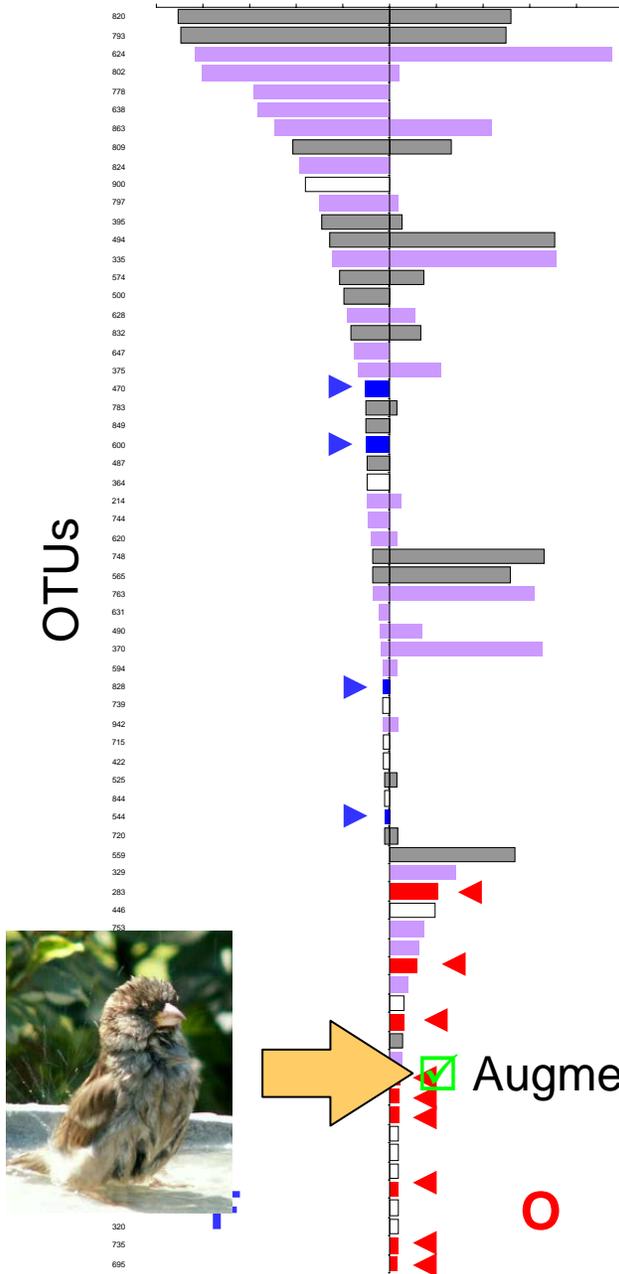
Bain d'eau : analyse des communautés bactériennes



✓ Change la structure des communautés bactériennes

Bain d'eau : analyse des communautés bactériennes

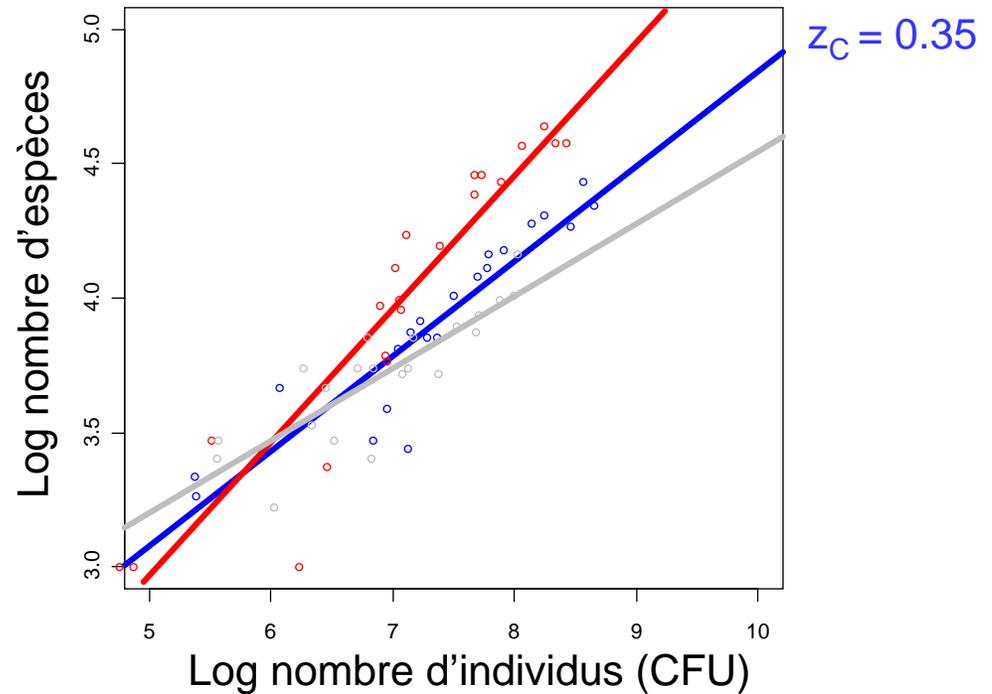
Contribution à la similarité



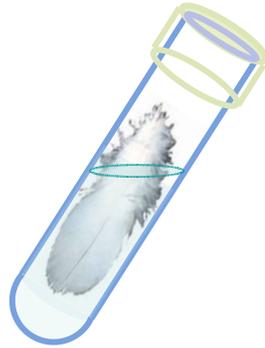
Relation aire - nombre d'espèces (SAR)

$$\text{Arrhenius : } \log S = z \log N$$

$$z_O = 0.50 \quad (p = 0.014)$$

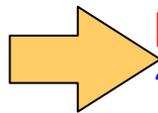


320
735
695



test non-paramétrique Wilcoxon / Kruskal-Wallis

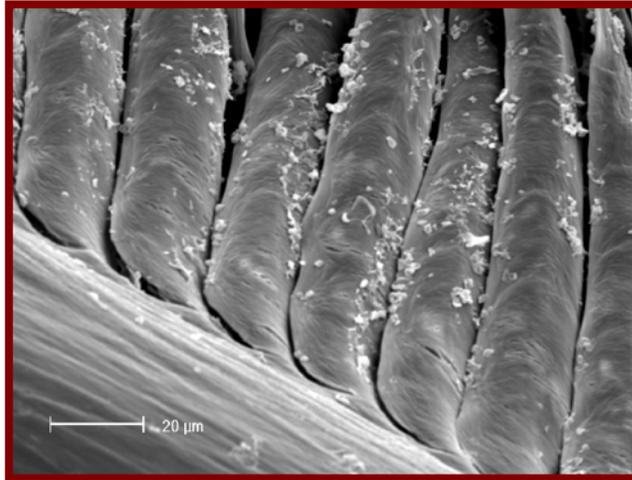
	J0	J10-O	J10-C	
Indice de Dégradation visuel	1.00 *	4.00	3.11	0.171



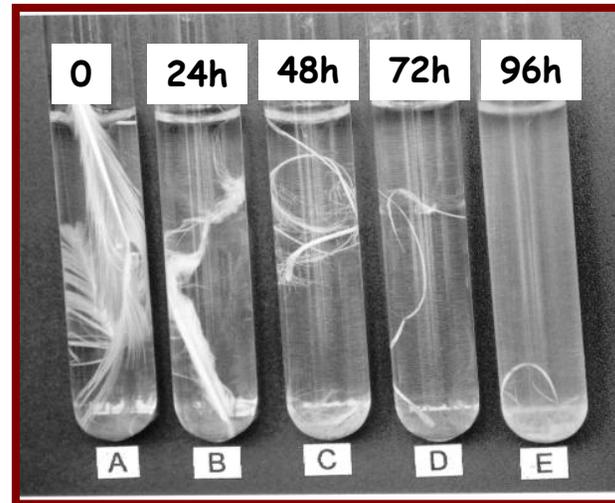
⊗ N'augmente pas significativement l'activité kératinolytique de l'eau
? Bain = compromis entre soin et contamination du plumage ?



Micro-organismes sur les plumes
> 90 % kératine



La kératinolyse...



Microbacterium spp dégrade les plumes *in vitro*

Riffel, Lucas, Heeb & Brandelli, *Arch. Microbiol.*, 2003
Thys, Lucas, Riffel, Heeb & Brandelli, *Let. Appl. Microbiol.* 2004

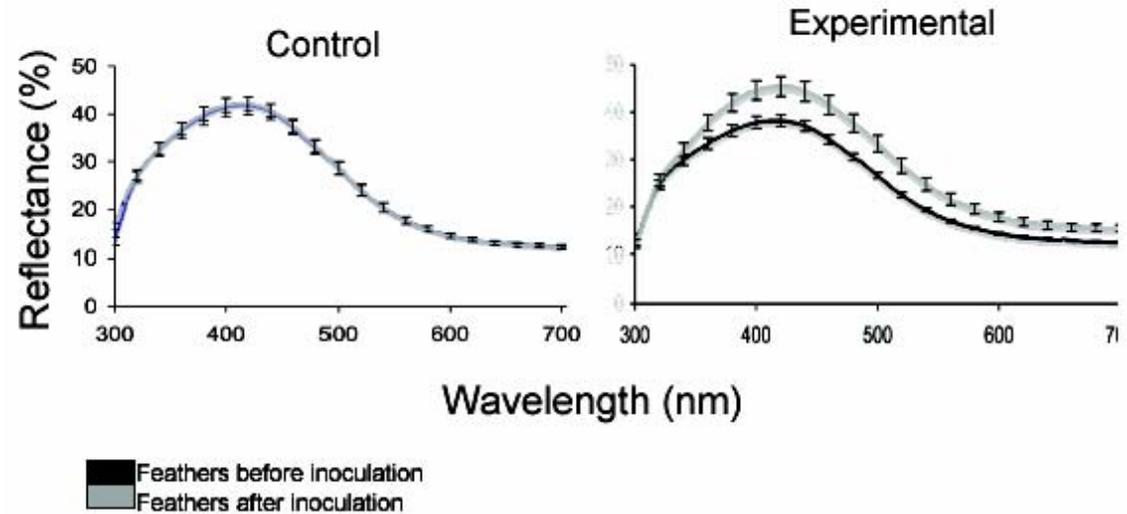
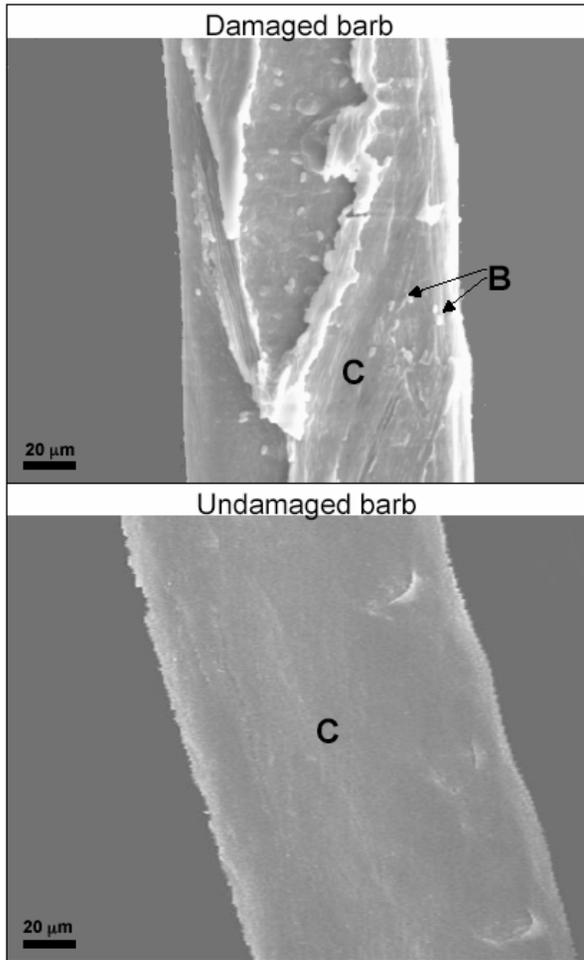
... est ubiquiste dans le sol

Lucas, Broenniman, Febbraro & Heeb, *Microbial Ecol.* 2003

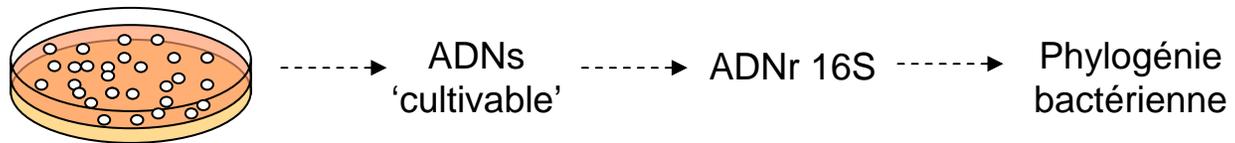
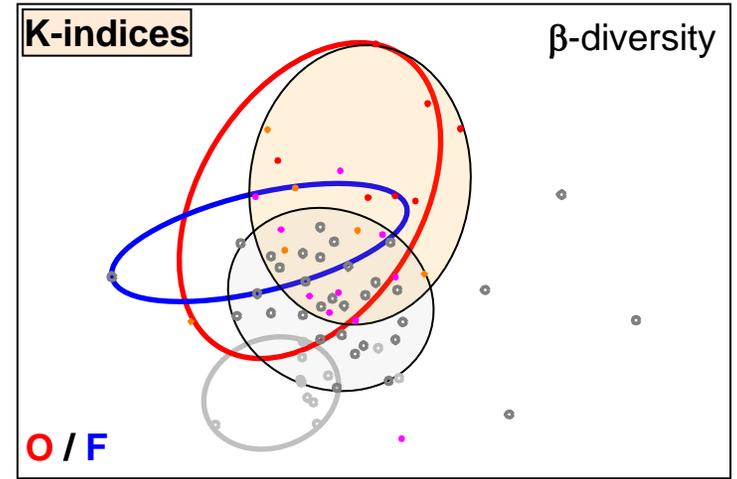
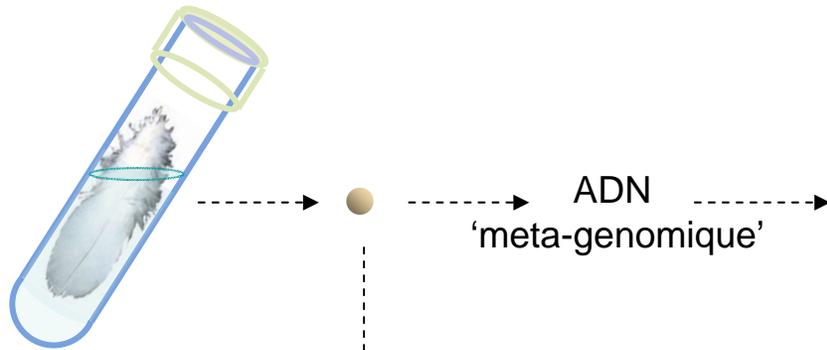
... et dans le plumage des oiseaux sauvages ?



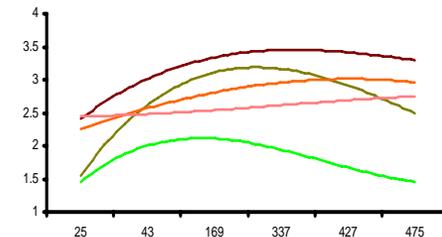
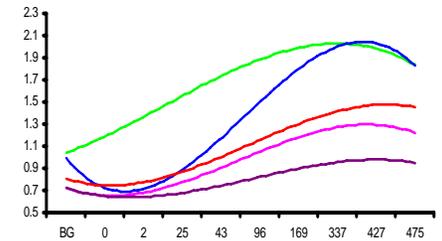
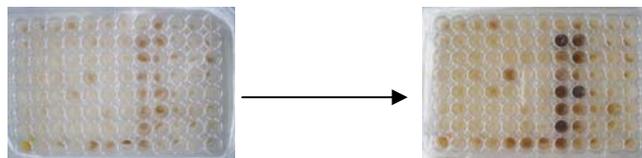
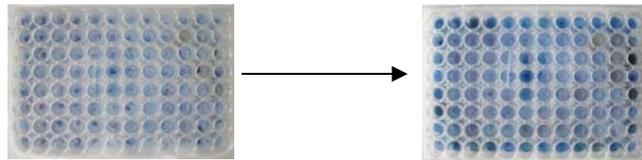
Bacillus pumilis dégrade les plumes
et modifie leur couleur



Activité keratinolytique : diversité taxonomique et diversité fonctionnelle



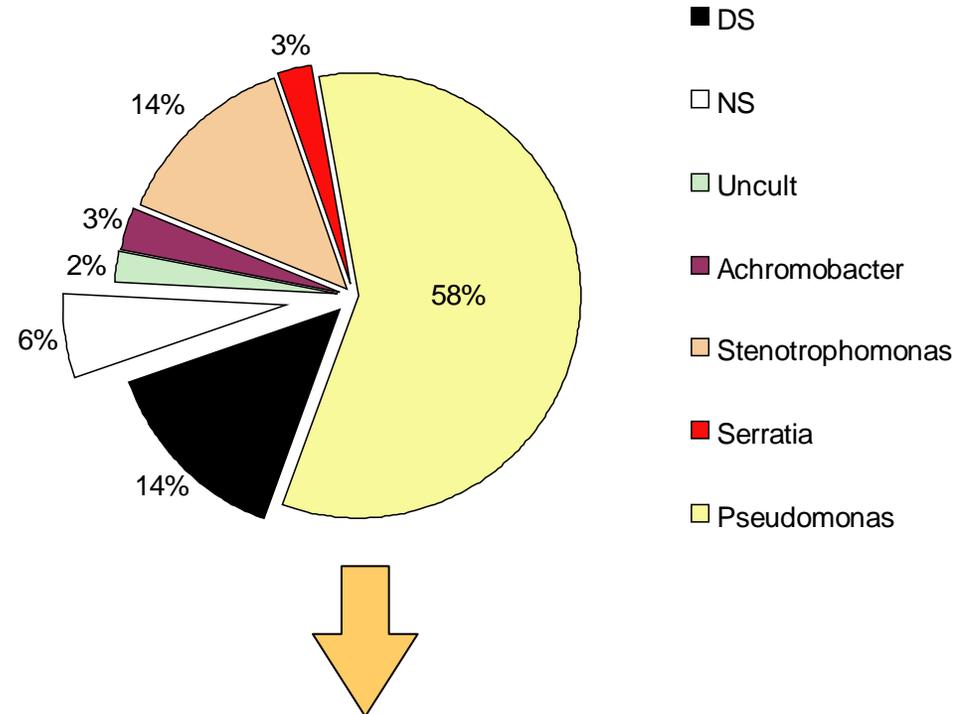
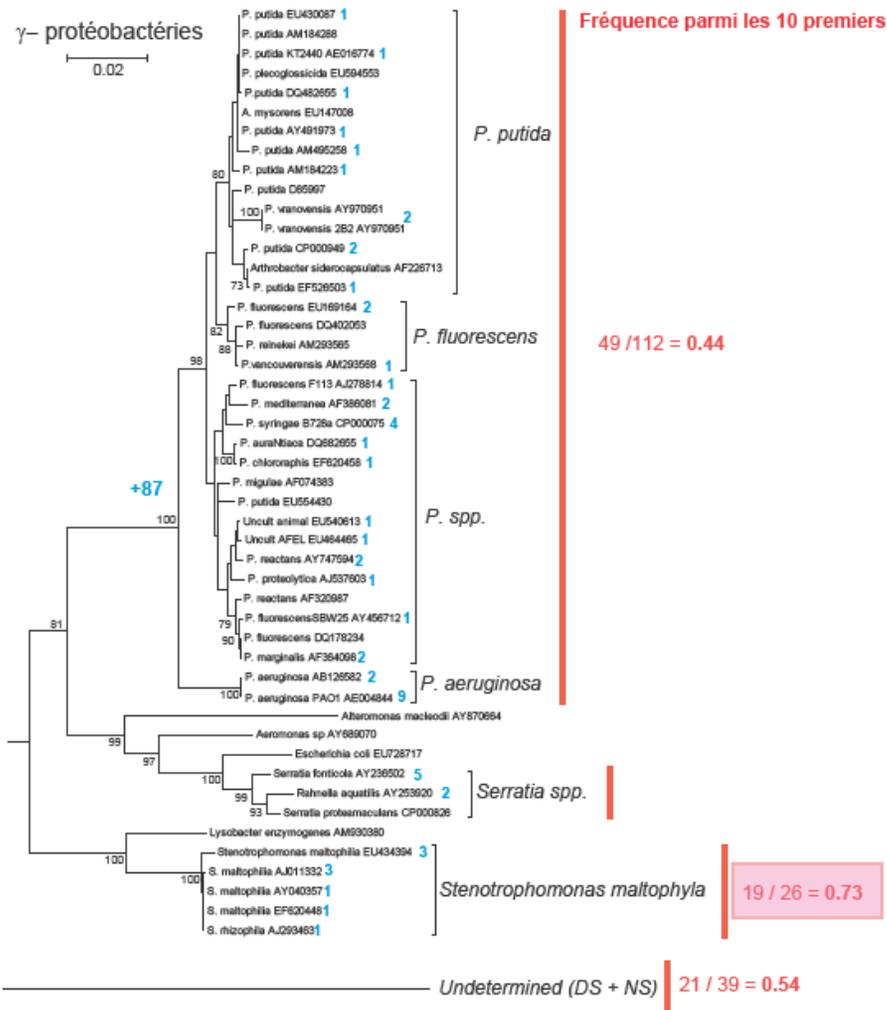
Phénotypage



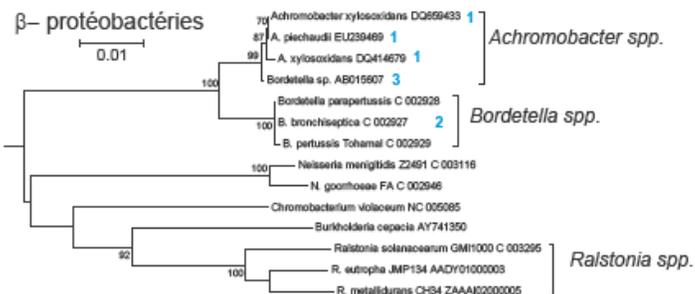
Keratine-Azur

Plume blanche

Activité keratinolytique : diversité taxonomique et diversité fonctionnelle

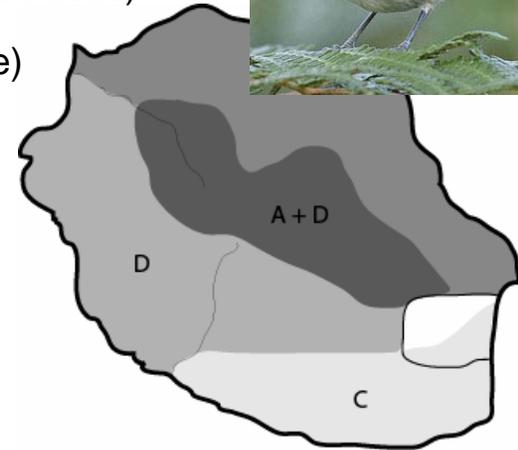


✓ nouvelles bactéries kératinolytiques ?



Relations oiseaux – bactéries : travaux en cours...

- Phylogéographie, Kératinolyse & Plumage (C. Thébaud, UPS-Toulouse)
- Transmission sexuelle de bactéries (E. Danchin, CNRS-Toulouse)
- Radiation environnementale (A.P. Møller, CNRS-Paris)



... et projets de recherche

Comportements de soins du plumage

- Baignade & lissage (thèse Gabor Czirjak)
(M.M. Lambrechts, CNRS-Montpellier)
- Glande Uropygiale (thèse Mathieu Giraudeau)
(C. Gutierrez UPS-Toulouse, V. Bretagnolle, CNRS-Chizé)



Pathogénie aviaire

- Microflore intestinale / *Salmonella*
(Dr. P. Velge, INRA)



Remerciements

