

Proposition de stage de M2 GSA 2006-2007

Encadrement(s): Mlle Bastian Fabiola ; Mr Alabouvette Claude

Fabiola.Bastian@dijon.inra.fr; claud.alabouvette@dijon.inra.fr; tel 03 80 69 30 41

UMR MSE. Laboratoire Microbiologie du Sol et de l'Environnement (MSE) INRA Dijon.

Titre : Caractérisation des communautés microbiennes de la Grotte de Lascaux.

Résumé :

La grotte de Lascaux, ornée de peintures et gravures datant de plus de 18000 ans a été aménagée pour faciliter la visite. La présence des visiteurs en grand nombre et les aménagements ont entraîné de graves problèmes biologiques qui ont engendré la fermeture au public de la grotte en 1963. La conservation des peintures et gravures de la grotte impliquent que soient jugulées les colonies fongiques et bactériennes qui ont envahi la grotte et réapparaissent régulièrement, malgré les traitements et le nettoyage effectués par les restaurateurs.

L'objectif du travail est de « dresser l'inventaire » des populations microbiennes autochtones de la grotte à partir d'échantillons prélevés dans des zones apparemment indemnes et des zones régulièrement contaminées.

Pour identifier les microorganismes présents dans la grotte de Lascaux nous aurons recours à deux types de méthodes :

- les méthodes classiques qui reposent sur la mise en culture et l'identification des espèces
- les méthodes moléculaires qui nécessitent l'extraction de l'ADN présent sur et dans les supports (argiles, sol) et l'analyse après amplification des séquences de l'ADN ribosomique.

Jusqu'à un passé récent, les microbiologistes souhaitant caractériser les communautés microbiennes des sols pour de méthodes de mise en culture sur des milieux plus ou moins spécifiques. Ces méthodes classiques ne révèlent qu'une faible proportion des micro-organismes du sol (1%). Au cours des dix dernières années, le développement des techniques de biologie moléculaire autorisant la caractérisation des microorganismes dans leur habitat naturel a permis de contourner les contraintes liées à leur mise en culture. La biodiversité et la structure des communautés microbiennes peuvent en effet être évaluées en analysant les genes codant pour la petite sous-unité de ARN ribosomiques (SSU rDNA : 16S pour les bactéries et 18S pour les champignons) ou les régions intergéniques de l'ADN ribosomique (ADNr). Cette approche repose sur l'extraction de l'ADN génomique total des échantillons à analyser, en quantité suffisante et d'une qualité satisfaisante pour servir de matrice PCR (polymerase chain reaction) afin d'amplifier la région d'ADNr ciblée.

Différentes techniques ont par la suite été développées pour analyser les produits d'amplification générés, telle que l'analyse du polymorphisme des fragments de restriction en position terminale (T-RFLP : terminal restriction length polymorphism) ou l'analyse du polymorphisme de taille de l'intergène de l'ADNr (RISA : ribosomal intergenic spacer analysis) et le clonage-séquençage systématique des produits d'amplification afin de caractériser les fragments d'ADNr isolés.