

AquADN

L'ADN environnemental comme
descripteur des plantes aquatiques
et indicateur environnemental

Armando Espinosa Prieto

Directeur : Jean-Nicolas Beisel

Encadrant : Laurent Hardion



Laboratoire

Image, ville, environnement | LIVE

de l'Université de Strasbourg

et du 

École doctorale



Sciences de la terre

et de l'**environnement** | ED 413

Université de Strasbourg



Observatoire
Hommes
Milieux
Fessenheim



OBJECTIFS



1. Inventaire végétal - Barcoding



2. Analyse bibliographique – ADNe pour le suivi floristique des zones humides



3. Applications sur le GCA / Vieux Rhin



Inventaire végétale - Barcoding





Inventaire végétal - Barcoding

Barcoding = identification moléculaire d'une espèce à travers un marqueur génétique

- **500 spécimens** zones humides
- 30% succès amplification de l'ITS
- +400 h de travail



Inventaire végétal - Barcoding

Barcoding = identification moléculaire d'une espèce à travers un marqueur génétique

- **500 spécimens** zones humides
- 30% succès amplification de l'ITS
- +400 h de travail





Inventaire végétal - Barcoding

Barcoding = identification moléculaire d'une espèce à travers un marqueur génétique

- **500 spécimens** zones humides
- 30% succès amplification de l'ITS
- +400 h de travail





Inventaire végétal - Barcoding

Barcoding = identification moléculaire d'une espèce à travers un marqueur génétique

- **500 spécimens** zones humides
- 30% succès amplification de l'ITS
- +400 h de travail



1. Extraction ADN

1'. Re-échantillonnage



Inventaire végétal - Barcoding

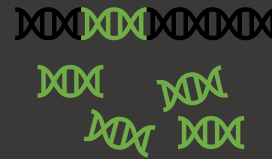
Barcoding = identification moléculaire d'une espèce à travers un marqueur génétique

- **500 spécimens** zones humides
- 30% succès amplification de l'ITS
- +400 h de travail



1. Extraction ADN

2. PCR



1'. Re-échantillonnage





Inventaire végétal - Barcoding

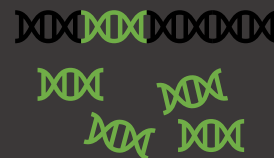
Barcoding = identification moléculaire d'une espèce à travers un marqueur génétique

- **500 spécimens** zones humides
- 30% succès amplification de l'ITS
- +400 h de travail



1. Extraction ADN

2. PCR



3. Séquençage

1'. Re-échantillonnage





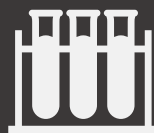
Inventaire végétal - Barcoding

Barcoding = identification moléculaire d'une espèce à travers un marqueur génétique

- **500 spécimens** zones humides
- 30% succès amplification de l'ITS
- +400 h de travail

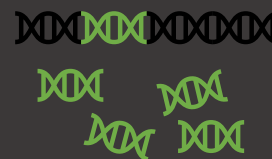


50mg



1. Extraction ADN

2. PCR



3. Séquençage

4. Bases de données



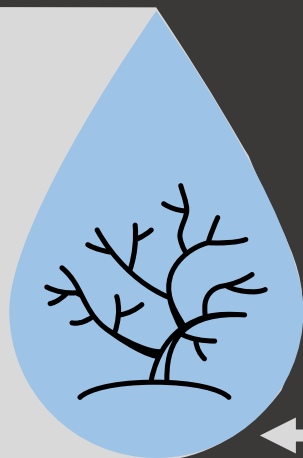
1'. Re-échantillonnage



Inventaire végétal - Barcoding

Taxonomic resolution

	Total	Macrophytes
Familles	117	29
Genre	373	37
Species	500	61



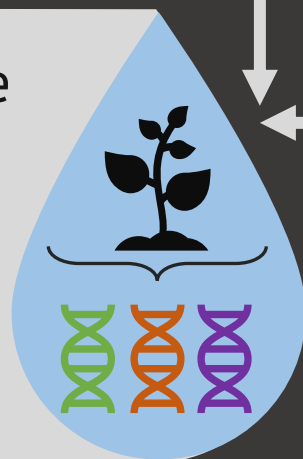
Geographic & Habitat data

- ♦ **Same sites for eDNA analysis**
- ♦ Geographic coordinates of specimens
- ♦ Annual aquatic habitat measures

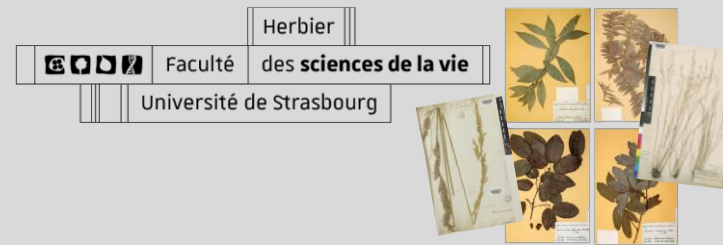


Multi-barcode coverage

- ♦ **5 markers / species**
from cpDNA and nrDNA
- ♦ “Universal” barcodes
ITS, rbcL, matK, trnL, 18S



Voucher specimens in regional herbarium





Inventaire végétal - Barcoding

Quelques ordres de grandeur :

	BD - Thèse
Total sp.	500
Plantes	Zone Humides
Provenance	Terrain (100%)
Zone étude	Grand Est
Marqueurs	ITS (<i>rbcL</i> , <i>matK</i>)



Inventaire végétal - Barcoding

Quelques ordres de grandeur :

	BD - Thèse	Kuzmina <i>et al</i> 2012
Total sp.	500	312
Plantes	Zone Humides	Arctiques
Provenance	Terrain (100%)	Terrain (60%) Herbier (40%)
Zone étude	Grand Est	Churchill, Canada
Marqueurs	ITS (<i>rbcL</i> , <i>matK</i>)	<i>rbcL</i> , <i>matK</i> , ITS2



Inventaire végétal - Barcoding

Quelques ordres de grandeur :

	BD - Thèse	Kuzmina <i>et al</i> 2012	De Vere <i>et al</i> 2012
Total sp.	500	312	1143
Plantes	Zone Humides	Arctiques	Vasculaires
Provenance	Terrain (100%)	Terrain (60%) Herbier (40%)	Herbier (85%), Terrain (15%)
Zone étude	Grand Est	Churchill, Canada	Pays de Galles (UK)
Marqueurs	ITS (<i>rbcL</i> , <i>matK</i>)	<i>rbcL</i> , <i>matK</i> , ITS2	<i>rbcL</i> , <i>matK</i>



Inventaire végétal - Barcoding

Quelques ordres de grandeur :

	BD - Thèse	Kuzmina <i>et al</i> 2012	De Vere <i>et al</i> 2012	Jones <i>et al</i> 2020
Total sp.	500	312	1143	1473
Plantes	Zone Humides	Arctiques	Vasculaires	Vasculaires
Provenance	Terrain (100%)	Terrain (60%) Herbier (40%)	Herbier (85%), Terrain (15%)	Herbier (82%) Terrain (18%)
Zone étude	Grand Est	Churchill, Canada	Pays de Galles (UK)	UK
Marqueurs	ITS (<i>rbcL</i> , <i>matK</i>)	<i>rbcL</i> , <i>matK</i> , ITS2	<i>rbcL</i> , <i>matK</i>	<i>rbcL</i> , <i>matK</i> , ITS2



Analyse bibliographique





Analyse bibliographique

Les verrous méthodologiques et scientifiques :



1. De l'ADNe de plantes dans l'eau ?



2. Quels marqueurs génétiques ?



3. Estimation des abondances ?



4. Les nouvelles méthodes



Analyse bibliographique



Preuve de concept ADNe de plantes dans l'eau : Sriver *et al.* 2015

19 articles ADNe de plantes d'eau douce / zones humides

	Communautaire	Spécifique
Articles	7	12
Approche	Métabarcoding	Barcoding
Amorces	Universelles	Spécifiques
Détection	NGS – HTS	qPCR



Analyse bibliographique



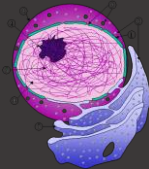
Quel génome ?

Chloroplastique



10% ADN total
+10k cp / cell
Régions répétées
"Petite" taille

Nucléaire



Grande quantité
Régions répétées



Quels marqueurs ?

Chloroplastiques

Spacers

Gènes

atpF-atpH

rbcl

psbK-psbI

matK

trnF-trnL

rpoB

trnH-psbA

rpoC1

Nucléaires

Spacers

Gènes

ITS1

18S

ITS2



Analyse bibliographique

- ✓ Détection espèces invasives (*Scriver et al. 2015* & 10 autres articles)
- ✓ Détection espèces rares (*Tsukamoto et al. 2021* & *Osathanunkul et al. 2019*)
- ✓ Suivi communautaire des zone humides (7 articles 2016 et 2020)
- ✓ Compréhension du signal ADNe de plantes (17 articles 2015 et 2021)



Estimation des densités de population de plantes ?

Expériences en aquarium → pas de résultats concluants

De nombreux facteurs biotiques et abiotiques rendent difficile l'estimation d'abondance d'une espèce

Validation des observation sur la terrain ?

Matsushashi et al 2016; Fujiwara et al 2016; Gantz et al 2018; Kuzmina et al 2018



Analyse bibliographique



Capture par hybridation

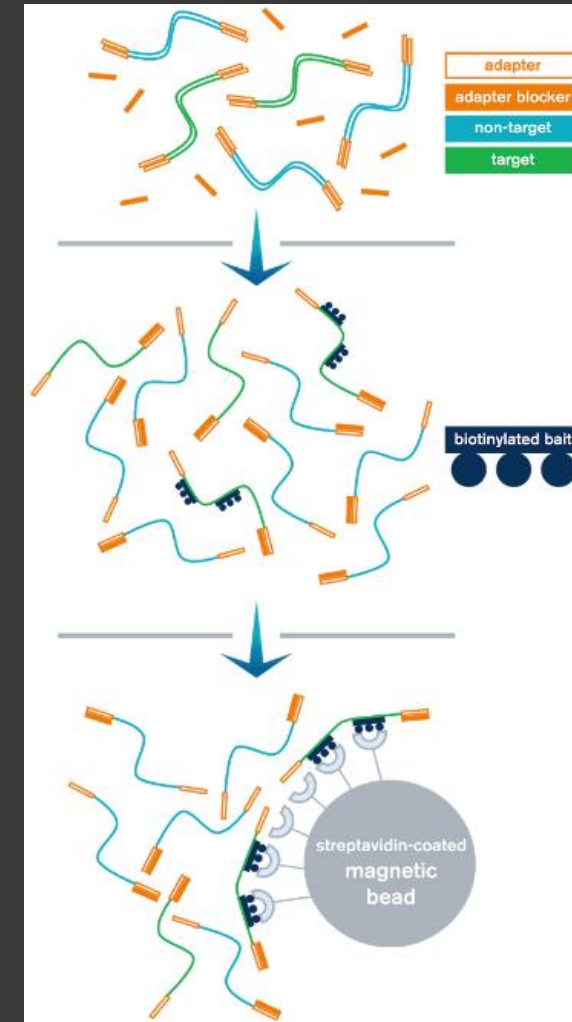
1^{ère} utilisation : ADNe animal (Seeber et al 2019)

Alternative à l'enrichissement de marqueurs par PCR

Objectifs

- ✓ Eviter erreurs de PCR
- ✓ Réduire le temps de traitement
- ✓ Augmenter les séquences retenues

Financement Bourse Idex Recherche 12k€
Projet débute en 2021





Applications sur le GCA/ Vieux Rhin





Applications sur le GCA / Vieux Rhin

→ **Analyses des données ADNe fin 2021**

Métabarcoding = identification moléculaire simultanée de l'ensemble d'espèces dans un échantillon d'ADNe à travers un ou plusieurs marqueurs génétiques



Applications sur le GCA / Vieux Rhin

→ **Analyses des données ADNe fin 2021**

Métabarcoding = identification moléculaire simultanée de l'ensemble d'espèces dans un échantillon d'ADNe à travers un ou plusieurs marqueurs génétiques



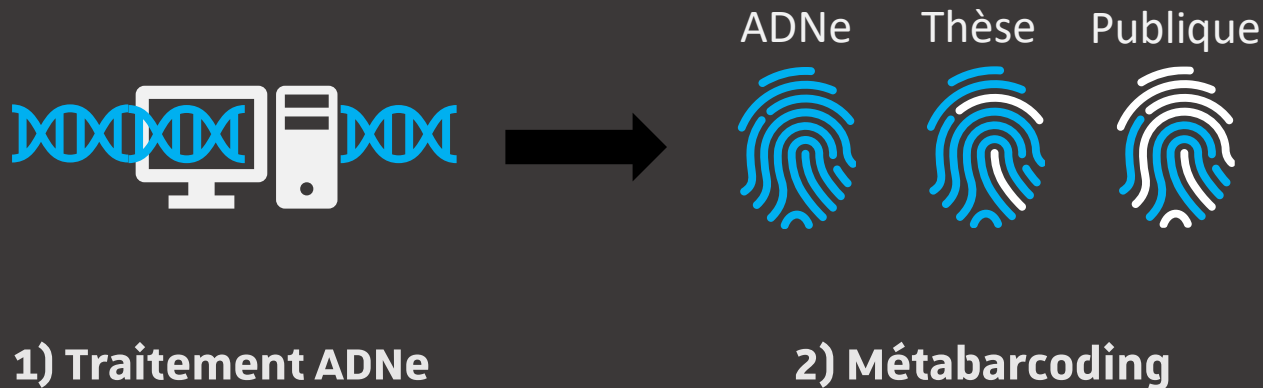
1) Traitement ADNe



Applications sur le GCA / Vieux Rhin

→ **Analyses des données ADNe fin 2021**

Métabarcoding = identification moléculaire simultanée de l'ensemble d'espèces dans un échantillon d'ADNe à travers un ou plusieurs marqueurs génétiques





Applications sur le GCA / Vieux Rhin

→ Analyses des données ADNe fin 2021

Métabarcoding = identification moléculaire simultanée de l'ensemble d'espèces dans un échantillon d'ADNe à travers un ou plusieurs marqueurs génétiques



1) Traitement ADNe



ADNe



Thèse



Publique



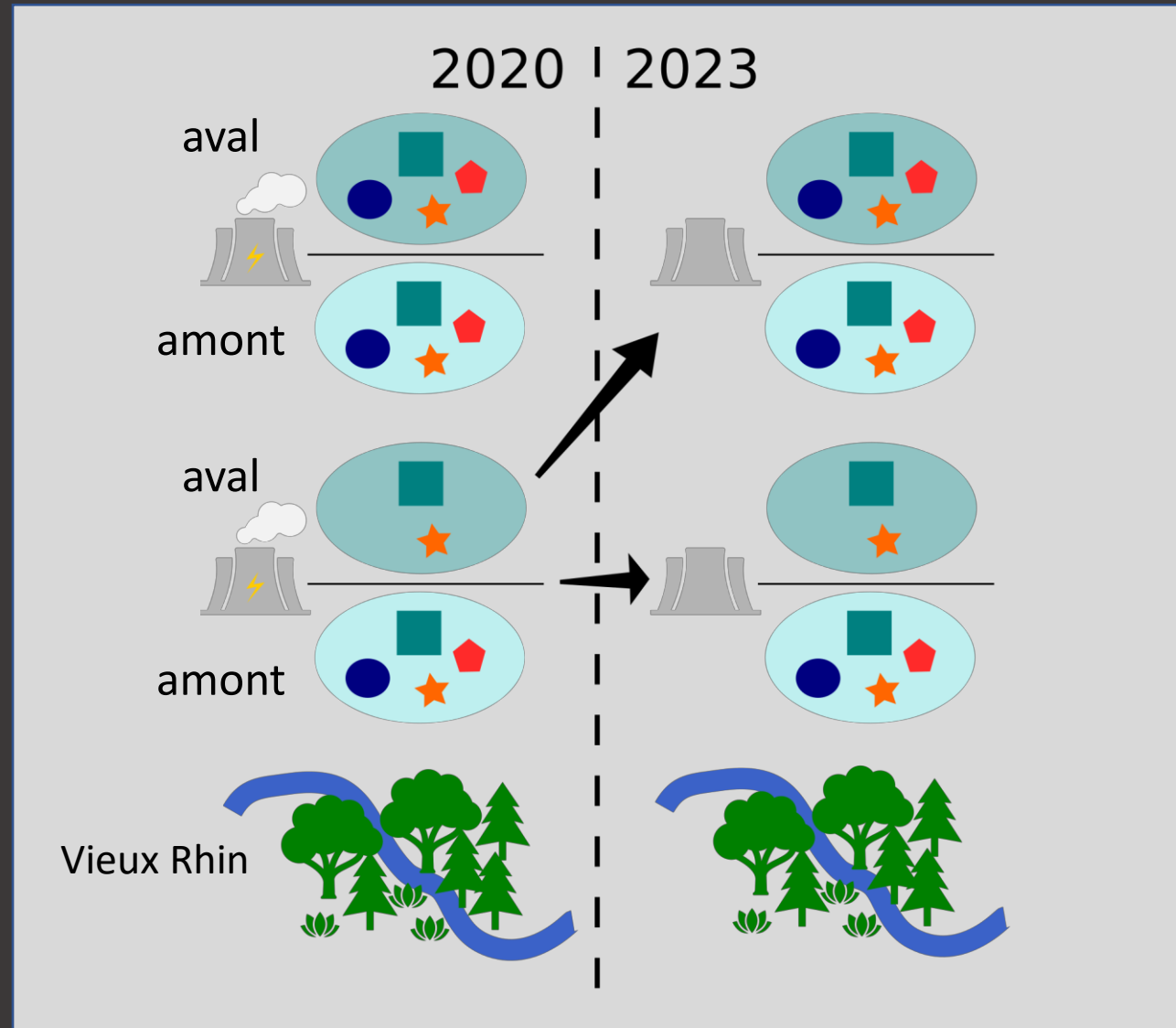
2) Métabarcoding



3) Analyses statistiques



Applications sur le GCA / Vieux Rhin



Merci pour
votre attention

