

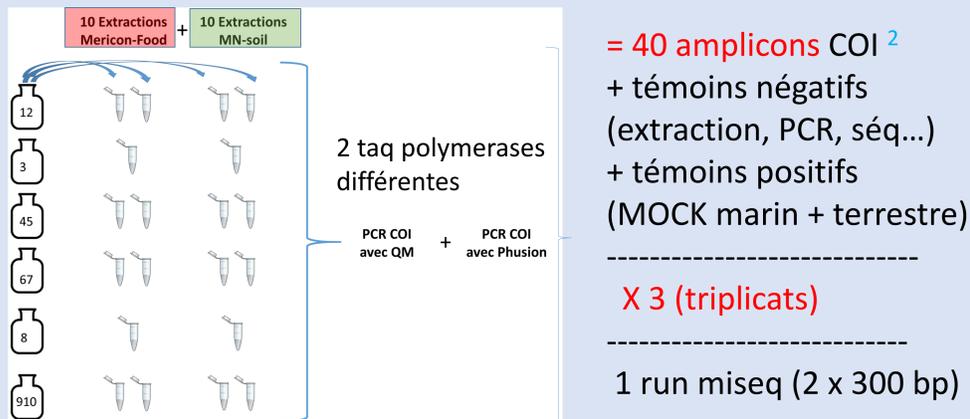
MISE AU POINT D'UN PROTOCOLE DE METABARCODING (COI) POUR LES COMMUNAUTÉS MARINES BENTHIQUES: COMPARAISON DE 2 KITS D'EXTRACTION ET 2 TAQS

Anne CHENUIL, Edwige COCH, Vincent DUBUT, Florent MARSCHAL, Emese MEGLE CZ, Pascal MIRLEAU

Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie marine et continentale, Station marine d'Endoume, Marseille

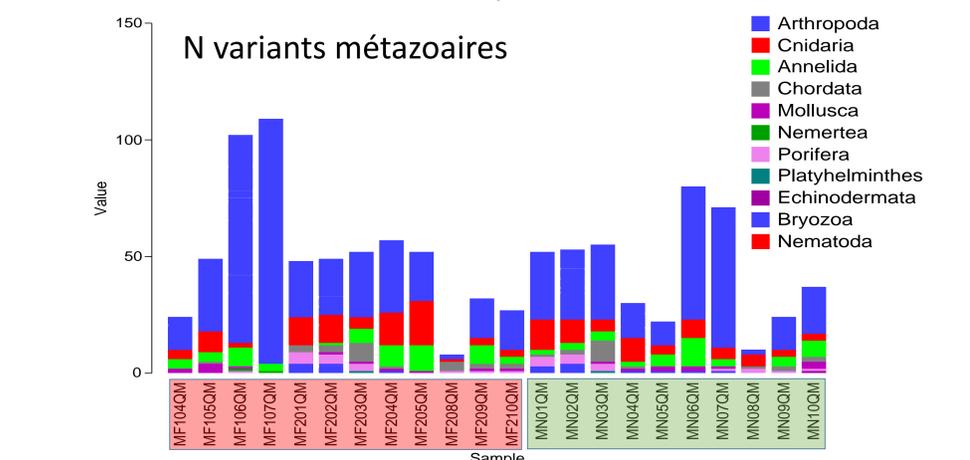
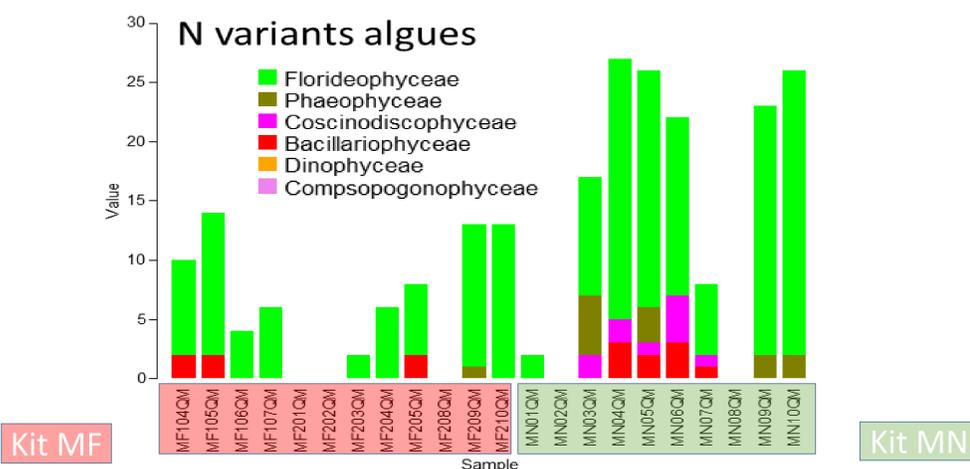
But: évaluer l'influence de la méthode d'extraction et de la taq polymérase dans le metabarcoding (par PCR du fragment de 313 bp de la COI²) du benthos marin.

Méthodes: Un protocole rigoureux de metabarcoding¹ a été utilisé sur 6 échantillons de benthos marin récoltés sur des dispositifs artificiels immergés vers 20m de profondeur pendant 1 an.

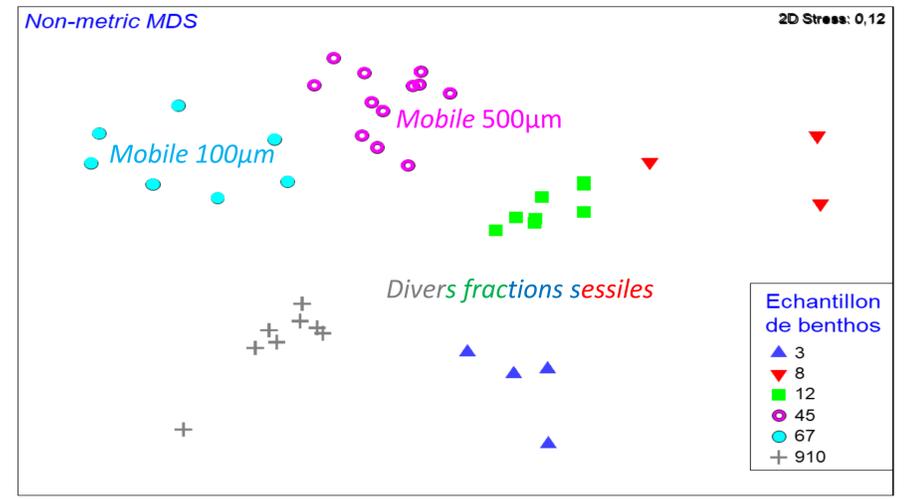


Après traitement bioinfo (pipeline¹ modifié), l'analyse des communautés se fait avec Primer7 (nb reads standardisés/sample, transformation, distance Bray-Curtis): nmMDS, PERMANOVAs...

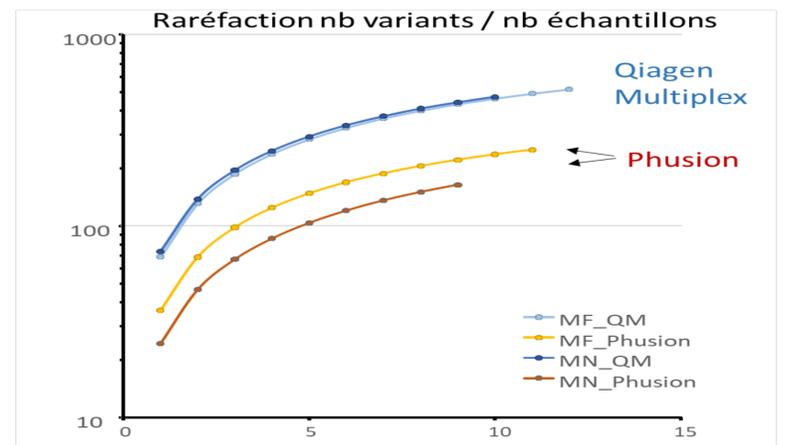
Résultat 3: La méthode d'extraction a un effet significatif sur la composition phylogénétique obtenue. Le kit « MN-soil » récupère plus de « non-animaux » (diatomées, algues, oomycètes, bactéries), Ces taxons sont rares, peu variés, voire absents avec le kit « Mericon Food ». Les 2 méthodes ont des résultats similaires pour les animaux.



Résultat 1: les réplicats biologiques (i.e. tirés du même échantillon de benthos) donnent des compositions en OTUs similaires qui se regroupent sur la MDS, bien que l'on ait utilisé moins d'1 g de matériel / extraction.



Résultat 2: La taq a un effet sur le nombre de reads et, en conséquence, le nombre de variants validés (après filtres). La « Qiagen Multiplex », non proof-reading, est supérieure. L'analyse bioinfo¹ réfute que le supplément de diversité soit dû à des erreurs. Les différents groupes taxonomiques sont affectés de même façon dans leur nombre de variants (pas de biais phylogénétique).



En cours : 1 autre paire d'amorces (avec le même design).

Bibliographie

- Corse, E., Meglecz, E., Archambaud, G., Ardisson, M., Martin, J.-F., Tougard, C., Chappaz, R., Dubut, V., 2017. *A from-benchtop-to-desktop workflow for validating HTS data and for taxonomic identification in diet metabarcoding studies*. *Mol. Ecol. Resour.* 17, e146–e159.
- Leray, M., Knowlton, N., 2015. *DNA barcoding and metabarcoding of standardized samples reveal patterns of marine benthic diversity*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 112, 2076–2081.

Remerciements à l'équipe de plongée sous-marine et du labo humide: Christian Marschal, Marjorie Selva, Dorian Guillemain, Laurent Vanbostal, Sandrine Chenesseau, Virgile Calvert, Erwan Bouchereau.

Financement:

Projet SEAMOB: <https://seamobb.osupytheas.fr/>
Financé par MARTERA et ANR.