



Caractérisation des communautés d'invertébrés des cavités d'arbres par génomique environnementale

Lucas Sire, Béatrice Courtial, Chloé Martin, Guilhem Parmain, Carl Moliard, Jérémy Cours, Christophe Bouget, Carlos Lopez-Vaamonde

► To cite this version:

Lucas Sire, Béatrice Courtial, Chloé Martin, Guilhem Parmain, Carl Moliard, et al.. Caractérisation des communautés d'invertébrés des cavités d'arbres par génomique environnementale. Séminaire final du projet CANOPEE, Université d'Orléans, Jun 2023, Orléans, France. 19 p. hal-04186507

HAL Id: hal-04186507

<https://hal.inrae.fr/hal-04186507>

Submitted on 23 Aug 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

Caractérisation des communautés d'invertébrés des cavités d'arbres par génomique environnementale

Lucas SIRE, Beatrice COURTIAL, Chloé MARTIN,
Guilhem PARMAIN, Carl MOLIARD, Jeremy COURS, Christophe
BOUGET, Carlos LOPEZ-VAAMONDE

✓ Dendro-microhabitats



✓ Problèmes méthodologiques

↳ Echantillonnage → perturbation du milieu



[153] LS-IRBI-CANOP0061 [Lateral]
Ampedus nigerrimus



[154] LS-IRBI-CANOP0055 [Lateral]
Ampedus nigerrimus



[155] LS-IRBI-CANOP0031 [Ventral]
Ampedus nigerrimus



[156] LS-IRBI-CANOP0083 [Lateral]
Ampedus nigerrimus



[157] LS-IRBI-CANOP0072 [Ventral]
Ampedus nigerrimus



[158] LS-IRBI-CANOP0064 [Lateral]
Ampedus nigerrimus



[159] LS-IRBI-CANOP0056 [Lateral]
Ampedus nigerrimus



[160] LS-IRBI-CANOP0759 [Ventral]
Ampedus nigerrimus



[161] LS-IRBI-CANOP0052 [Dorsal]
Ampedus nigerrimus



[162] LS-IRBI-CANOP0060 [Lateral]
Ampedus nigerrimus



[163] LS-IRBI-CANOP0059 [Lateral]
Ampedus nigerrimus



[164] LS-IRBI-CANOP0053 [Lateral]
Ampedus nigerrimus



[165] LS-IRBI-CANOP0078 [Lateral]
Ampedus nigerrimus



[166] LS-IRBI-CANOP0081 [Lateral]
Ampedus nigerrimus



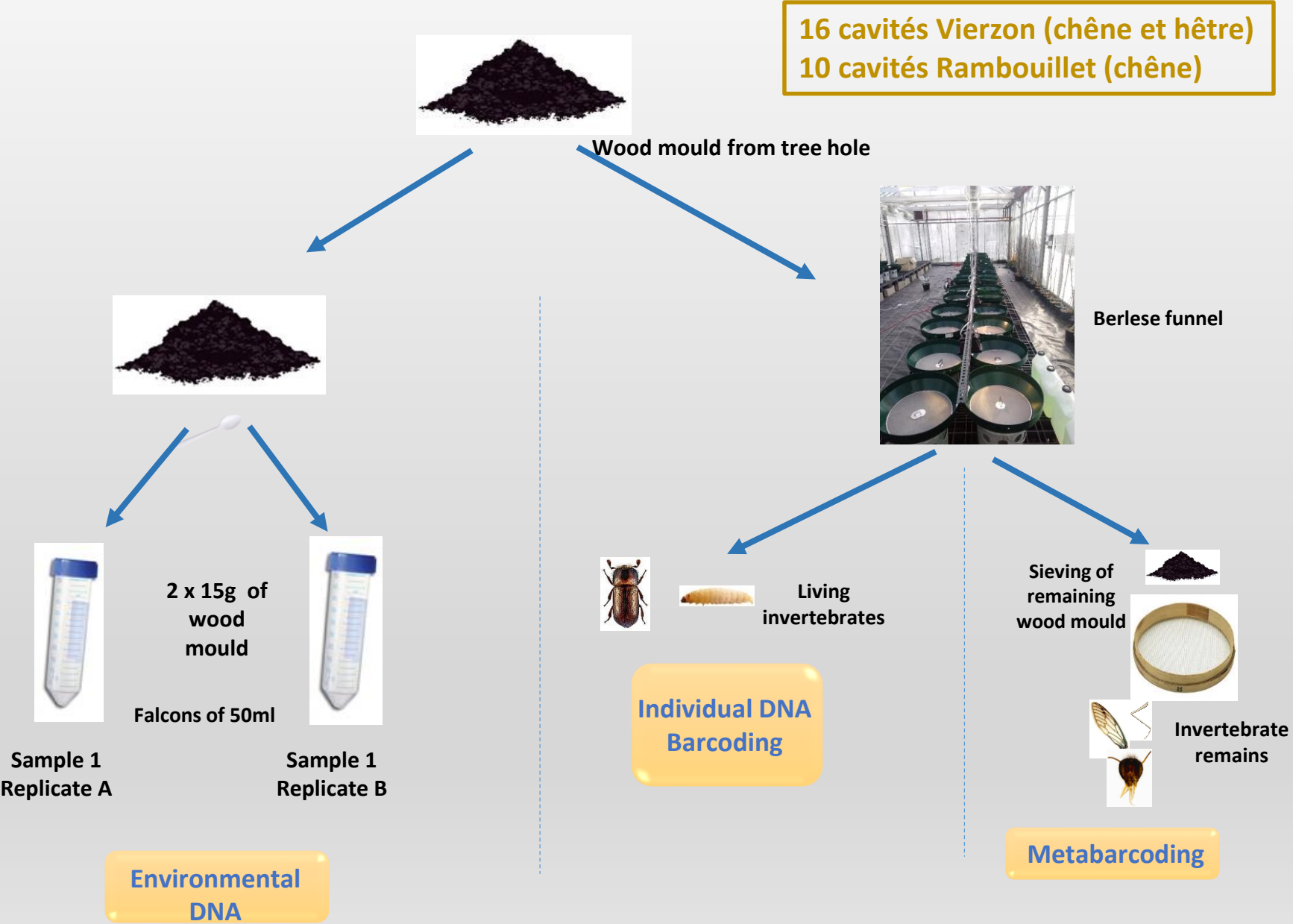
[167] LS-IRBI-CANOP0736 [Ventral]
Ampedus nigerrimus



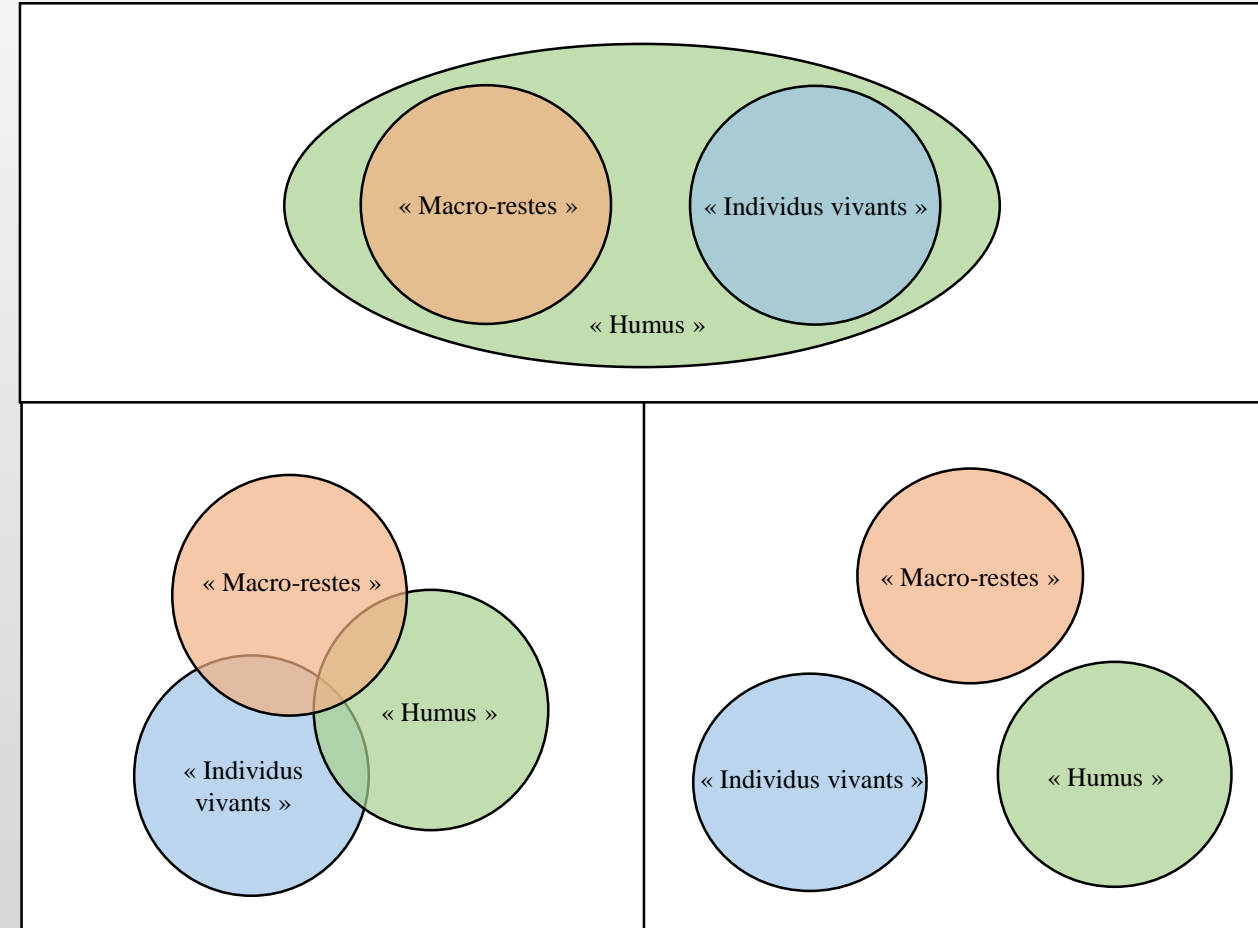
[168] LS-IRBI-CANOP0757 [Lateral]
Ampedus nigerrimus



SAMPLING OF WOOD MOULD FROM TREE HOLES



- A. Les communautés retrouvées par l'approche sur l'humus (ADNe) rassemblent les communautés retrouvées par les deux autres approches
- B. Les communautés partagent des espèces
- C. Les communautés sont complètement différentes

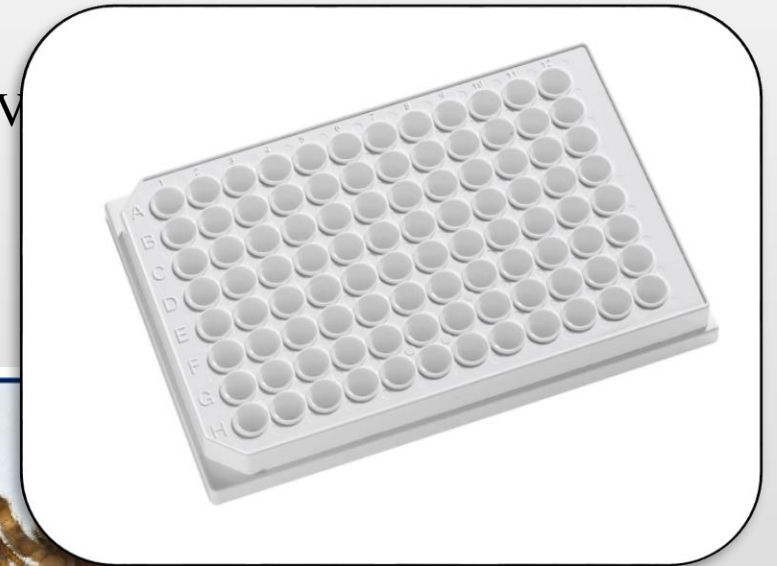


Développement d'une méthode de suivi des cavités en diminuant la perturbation lié à l'échantillonnage

Code-barres ADN

✓ Echantillonnage

- ↳ Identification morphologique (Guilhem Parmain, INRAE Nogent sur V)
- ↳ Photographie des 1343 individus
- ↳ Prélèvement tissu



✓ Traitement moléculaire

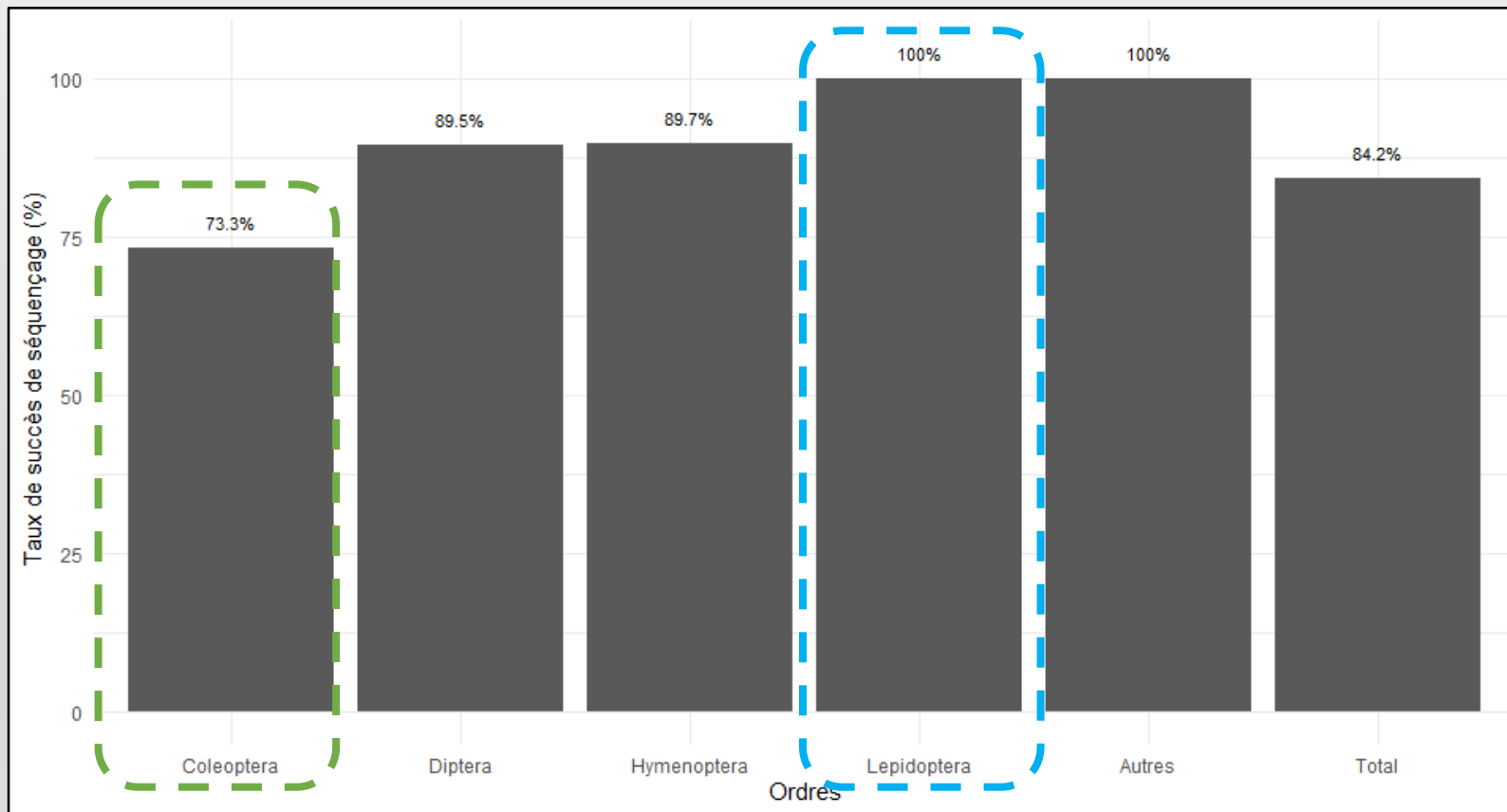
- ↳ 'Canadian
- ↳ Extraction
- ↳ Séquençage



✓ Réussite de séquençage général

↳ Taux de séquençage = 76.5% (984 séquences sur 1343 individus)

✓ Différent taux de séquençage entre les ordres



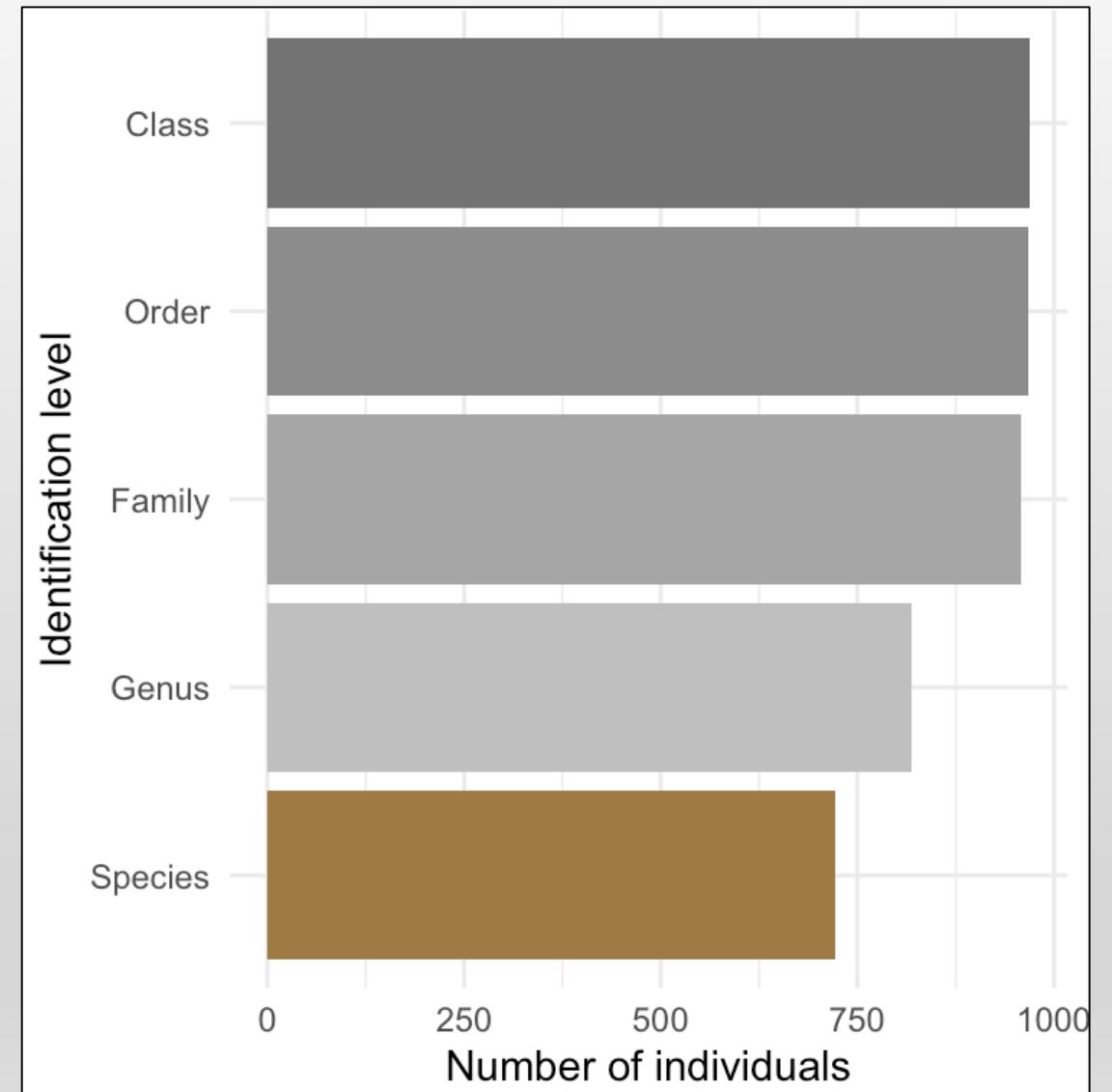
✓ Niveau d'identification

↳ Ordre, 984 individus séquencés (100%)

↳ Famille 980 (99.6%)

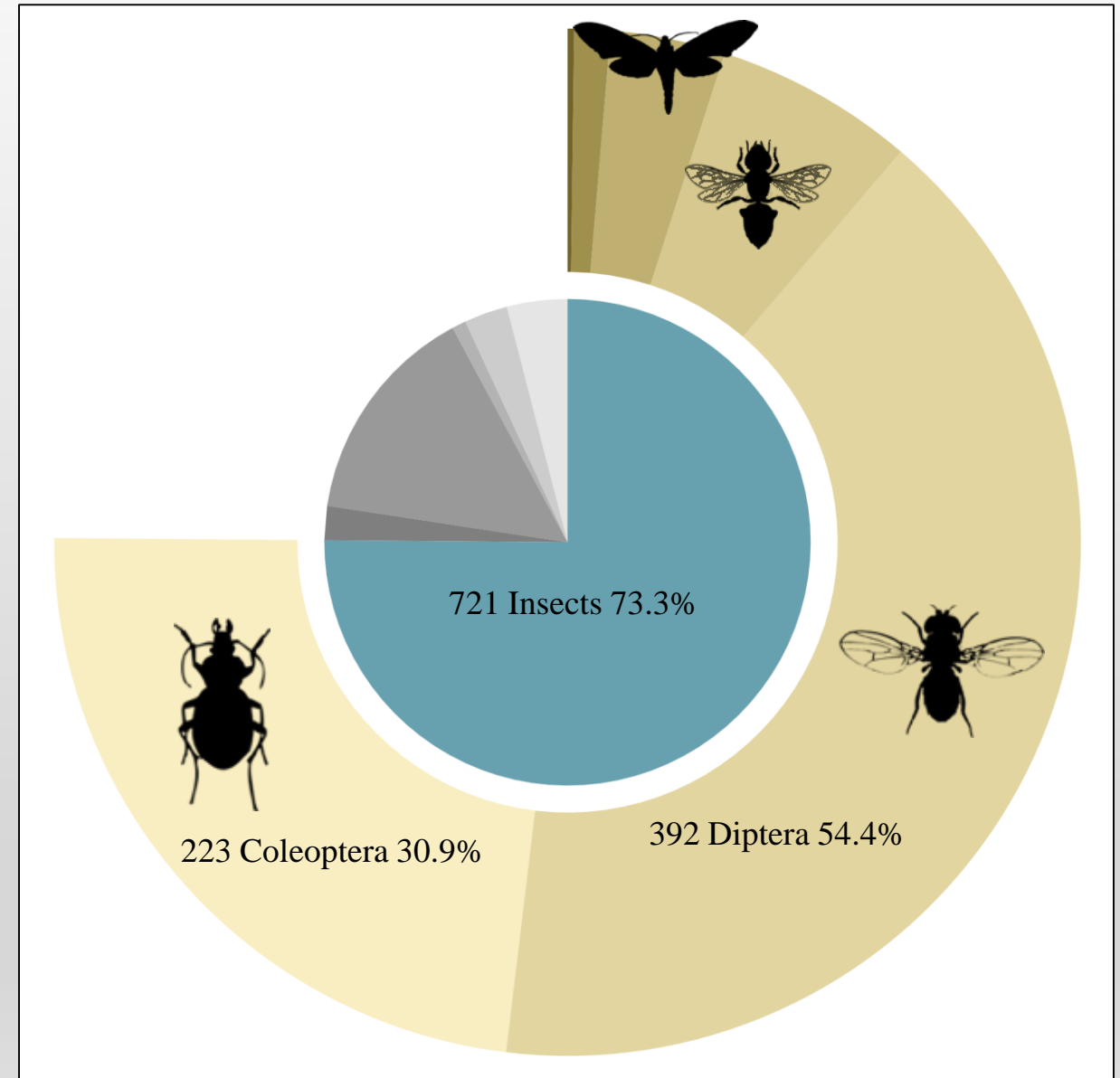
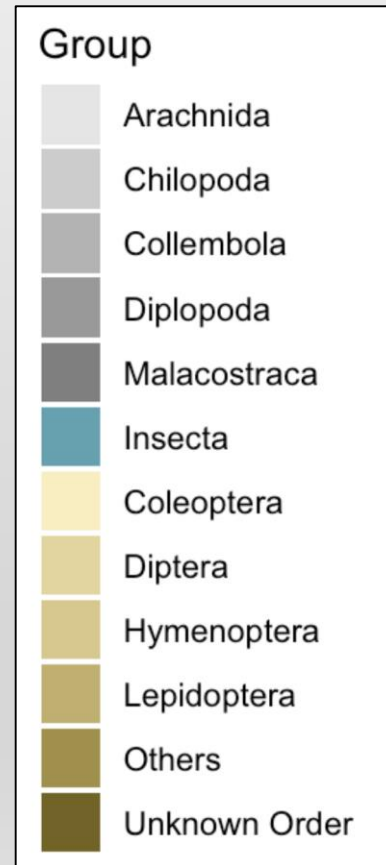
↳ Genre 857 (87.1%)

↳ Espèce 757 (76.9%)



✓ Communauté d'arthropodes très diverse

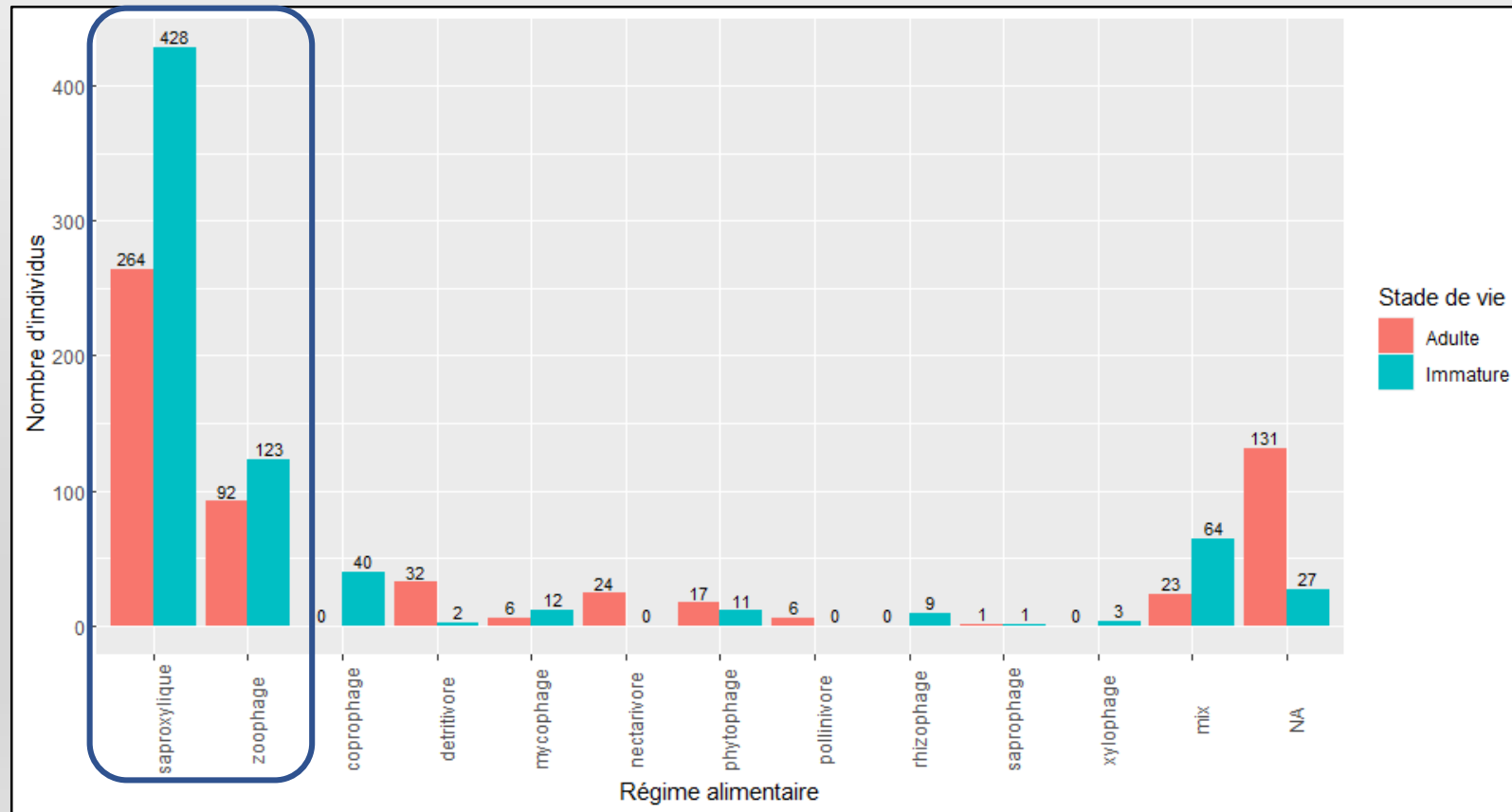
↳ 6 classes, 20 ordres, 75 familles et 125 espèces.





Taxa majoritairement inféodés aux milieux décomposés/en décomposition

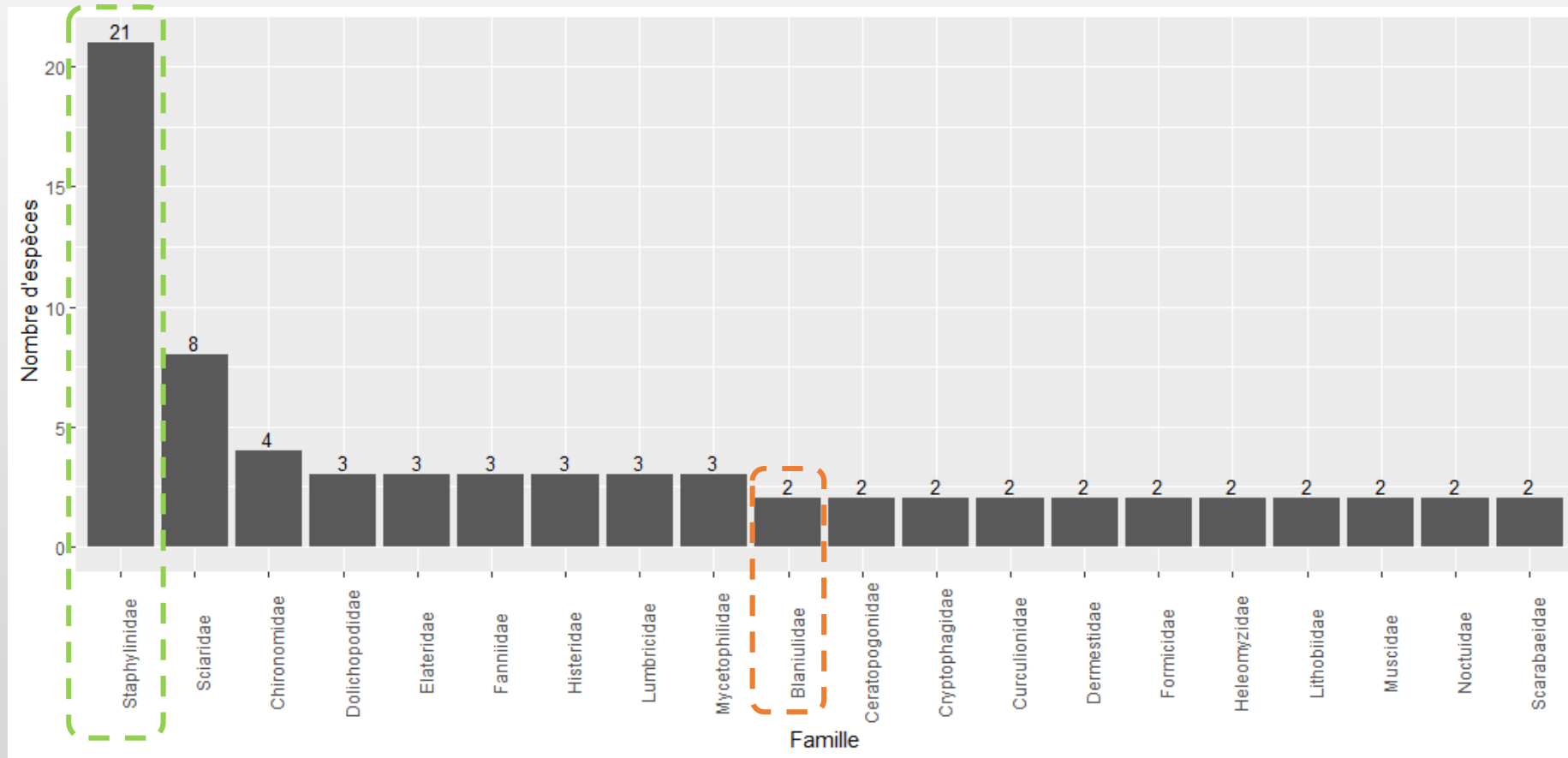
La majorité des régimes alimentaires des familles retrouvées sont en lien avec le milieu cavicole et varient en fonction de leur stade de développement.



Cetonia aurata

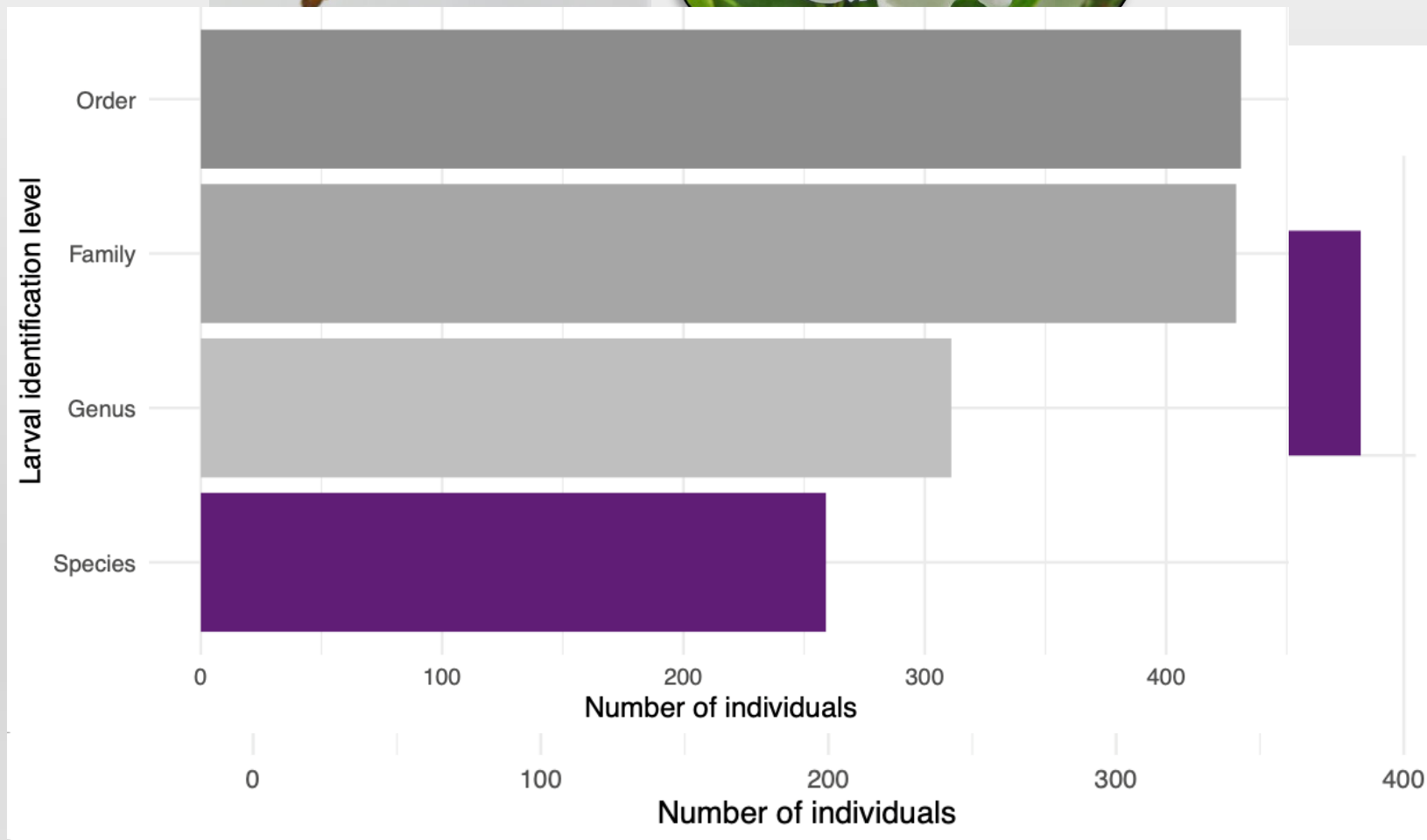


✓ **Richesse spécifique. 125 espèces**

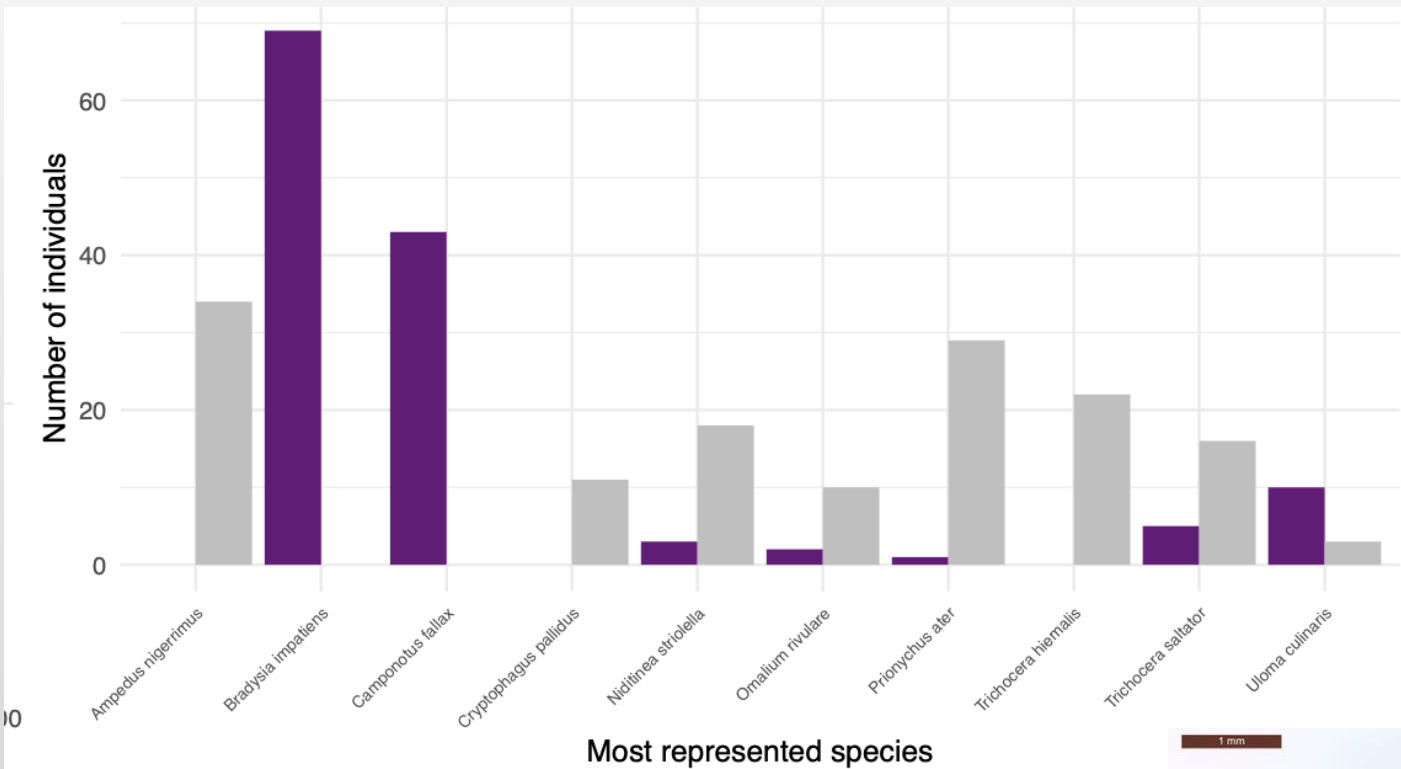


➔ **Staphylinidae est la famille la plus riche en espèces.**

72% (311 sur 431) des larves identifiées à genre
60% (259 sur 431) identifiées à espèces
60% (431 sur 721) des insectes séquencés sont des larves



✓ Les 10 espèces les plus représentées dans les individus barcodés



Ampedus nigerimus (34 larves)

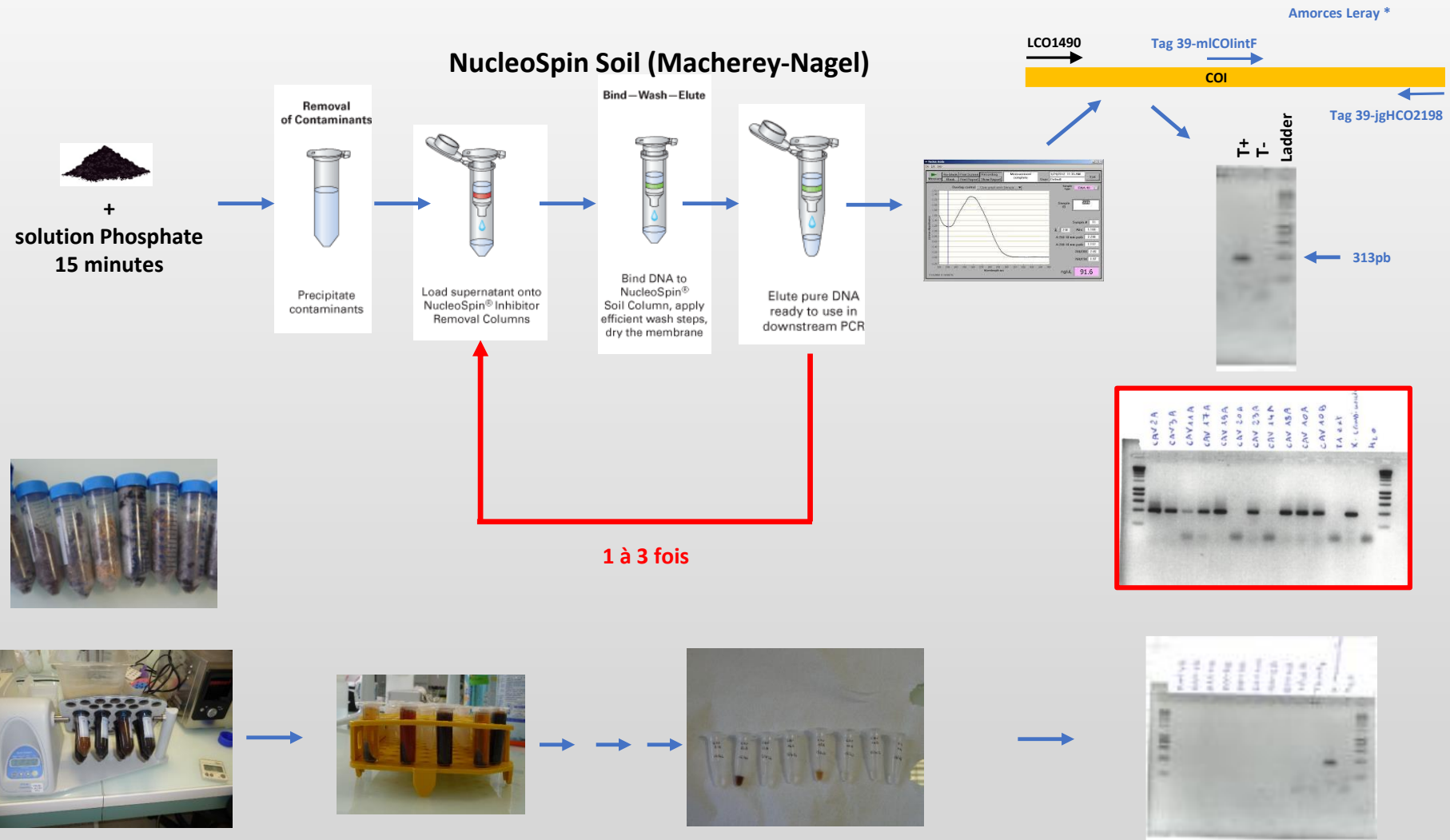


Cryptophagus pallidus (11 larves)



Trichocera hiemalis (22 larves)

PROTOCOLE EXTRACTION - QUANTIFICATION -AMPLIFICATION



* Leray, M. *et al.* A new versatile primer set targeting a short fragment of the mitochondrial COI region for metabarcoding metazoan diversity: application for characterizing coral reef fish gut contents. *Front. Zool.* **10**, 34 (2013).

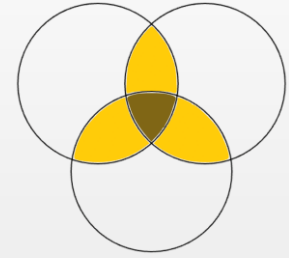
BILAN DES TESTS D'AMPLIFICATION

| Série extraction | Nom échantillon | Commentaire | Concentration (en ng/μl) | PCR amorces Leray | Conclusion |
|------------------|-----------------|-------------|--------------------------|-------------------|------------|
| Jour 1 | CAV1A | Purif 1 | 8,337 | +++ | OK |
| | CAV2A | Purif 2 | 7,513 | +++ | OK |
| | CAV3A | Purif 2 | 4,345 | ++ | OK |
| | CAV8A | Purif 1 | 7,877 | ++ | OK |
| | CAV11A | Purif 2 | 7,037 | + | OK |
| | CAV17A | Purif 2 | 6,883 | ++ | OK |
| | CAV19A | Purif 2 | 6,558 | +++ | OK |
| | CAV20A | Purif 3 | 3,324 | +/- | OK |
| | CAV21A | Purif 1 | 9,846 | ++ | OK |
| | CAV22A | Purif 1 | 5,544 | + | OK |
| | CAV23A | Purif 2 | 3,268 | ++ | OK |
| | CAV14A | Purif 3 | 2,321 | +/- | OK |
| | CAV18A | Purif 2 | 4,654 | ++ | OK |
| | CAV10A | Purif 2 | 3,617 | ++ | OK |
| | CAV10B | Purif 2 | 3,109 | + | OK |
| | T1 ext | | | | |
| Jour 2 | CAV16A | Purif 1 | 14,67 | +++ | OK |
| | CAV16B | Purif 1 | 16,234 | +++ | OK |
| | CAV12A | Extraction | 14,08 | ++ | OK |
| | CAV12B | Extraction | 25,31 | ++ | OK |
| | RAM1A | Purif 2 | 6,105 | +++ | OK |
| | RAM3A | Purif 2 | 4,865 | +++ | OK |
| | RAM4A | Purif 2 | 4,387 | +++ | OK |
| | RAM5A | Purif 2 | 2,819 | ++ | OK |
| | RAM7A | Purif 2 | 5,11 | +++ | OK |
| | RAM8A | Purif 1 | 9,864 | + | OK |
| | RAM9A | Purif 1 | 11,257 | ++ | OK |
| | RAM10A | Purif 2 | 6,223 | ++ | OK |
| | RAM2A | Purif 1 | 6,65 | +++ | OK |
| | RAM6A | Purif 2 | 4,522 | ++ | OK |
| | TPrelA | Purif 1 | 2,641 | - | OK |
| | TPrelA | Purif 2 | 2,9 | - | OK |
| | T2 ext | | | | |

| Série extraction | Nom échantillon | Commentaire | Concentration (en ng/μl) | PCR amorces Leray | Conclusion |
|------------------|-----------------|-------------|--------------------------|-------------------|------------|
| Jour 3 | CAV1B | Purif 1 | 10,214 | ++ | OK |
| | CAV2B | Purif 2 | 5,227 | +++ | OK |
| | CAV3B | Purif 2 | 4,842 | +++ | OK |
| | CAV8B | Purif 1 | 12,667 | +++ | OK |
| | CAV11B | Purif 3 | 3,044 | +/- | OK |
| | CAV17B | Purif 2 | 3,08 | + | OK |
| | CAV19B | Purif 2 | 3,936 | ++ | OK |
| | CAV20B | Purif 3 | 4,024 | +/- | OK |
| | CAV21B | Purif 1 | 7,734 | ++ | OK |
| | CAV22B | Purif 2 | 3,598 | ++ | OK |
| | CAV23B | Purif 2 | 2,844 | ++ | OK |
| | CAV14B | Purif 3 | 3,248 | +/- | OK |
| | CAV18B | Purif 2 | 4,943 | +++ | OK |
| | RAM1B | Purif 2 | 5,42 | +++ | OK |
| | RAM3B | Purif 2 | 6,253 | +++ | OK |
| | T3 ext | | | | |
| Jour 4 | RAM4B | Purif 2 | 7,32 | ++ | OK |
| | RAM5B | Purif 2 | 4,47 | ++ | OK |
| | RAM7B | Purif 2 | 7,065 | +++ | OK |
| | RAM8B | Purif 1 | 9,243 | ++ | OK |
| | RAM9B | Purif 1 | 13,604 | + | OK |
| | RAM10B | Purif 2 | 7,915 | +++ | OK |
| | RAM2B | Purif 1 | 8,434 | +++ | OK |
| | RAM6B | Purif 2 | 5,908 | +++ | OK |
| | TPrelB | Purif 1 | 3,802 | +/- | KO |
| | TPrelB | Purif 2 | 5,859 | - | OK |
| | T4ext | | | | |

Métabarcoding du terreau

- Amplicon de 313-pb | 3 répliques PCR par échantillon 1 read
- Assignment taxonomique BOLDIGGER (> 97% similarité)
 - 58 MOTUs d'insectes
 - 50 identifiés au niveau espèce
 - Diptera: 27 MOTUs
 - Coleoptera: 18
 - Hymenoptera: 4
 - Hemiptera: 2
 - Lepidoptera: 1

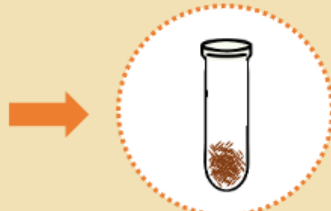


Protocol for Amplifying DNA from body remains sieved from wood mould of tree holes

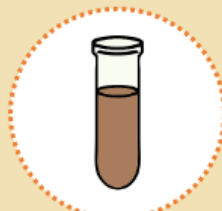
LABORATORY PROCESSING



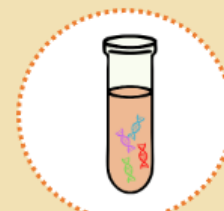
Arthropod remains



Remains grinding



Lysis



DNA Extraction
NucleoMag® Tissue
(Macherey-Nagel)

A

Dilutions

PCR
(313 bp)

1

PCR
(130 bp)

2

Purification

QIAamp® DNA Mini
Kit (Qiagen)

PCR
(130 bp)

3

Nucleospin® Soil
(Macherey-Nagel)

PCR
(130 bp)

5

QIAamp® Fast DNA
Stool Mini Kit
(Qiagen)

PCR
(130 bp)

6

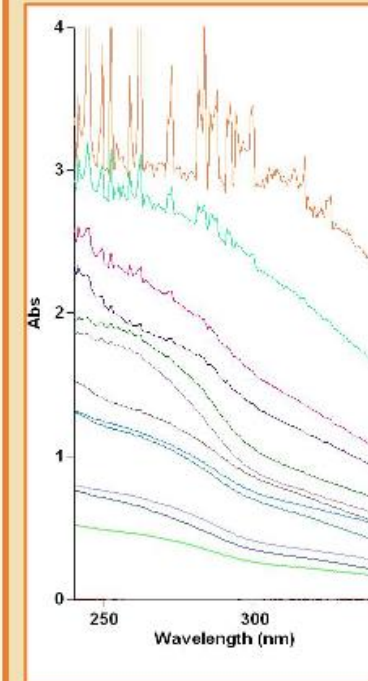
Dilutions

PCR + C⁺
(130 bp)

4

INHIBITORS REMOVAL

Spectrophotometry on VARIAN Cary 50
Curves indicate samples' absorbance at various
wavelengths (max DNA abs. ~260 nm)

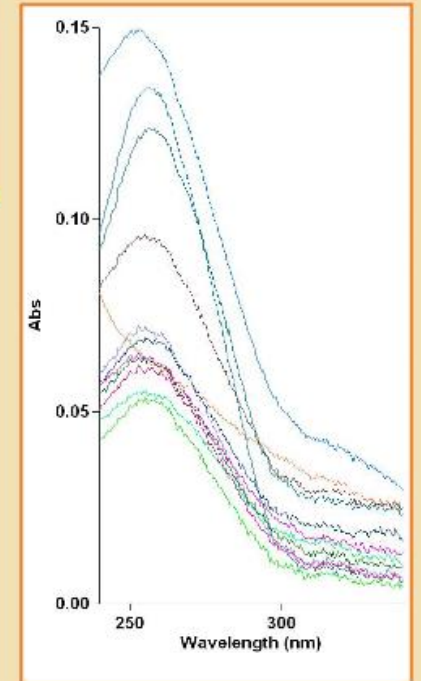


A Post-extraction

NucleoMag® Tissue
(Macherey-Nagel)

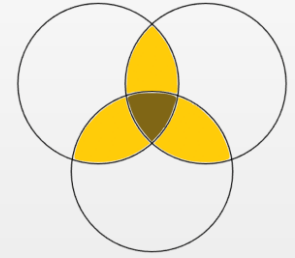
B Post-purification

NucleoSpin® Soil
(Macherey-Nagel)



Métabarcoding des macrorestes

- Amplicon de 127-pb | 3 répliques PCR par échantillon 1 read
- Assignment taxonomique BOLDIGGER (> 97% similarité)



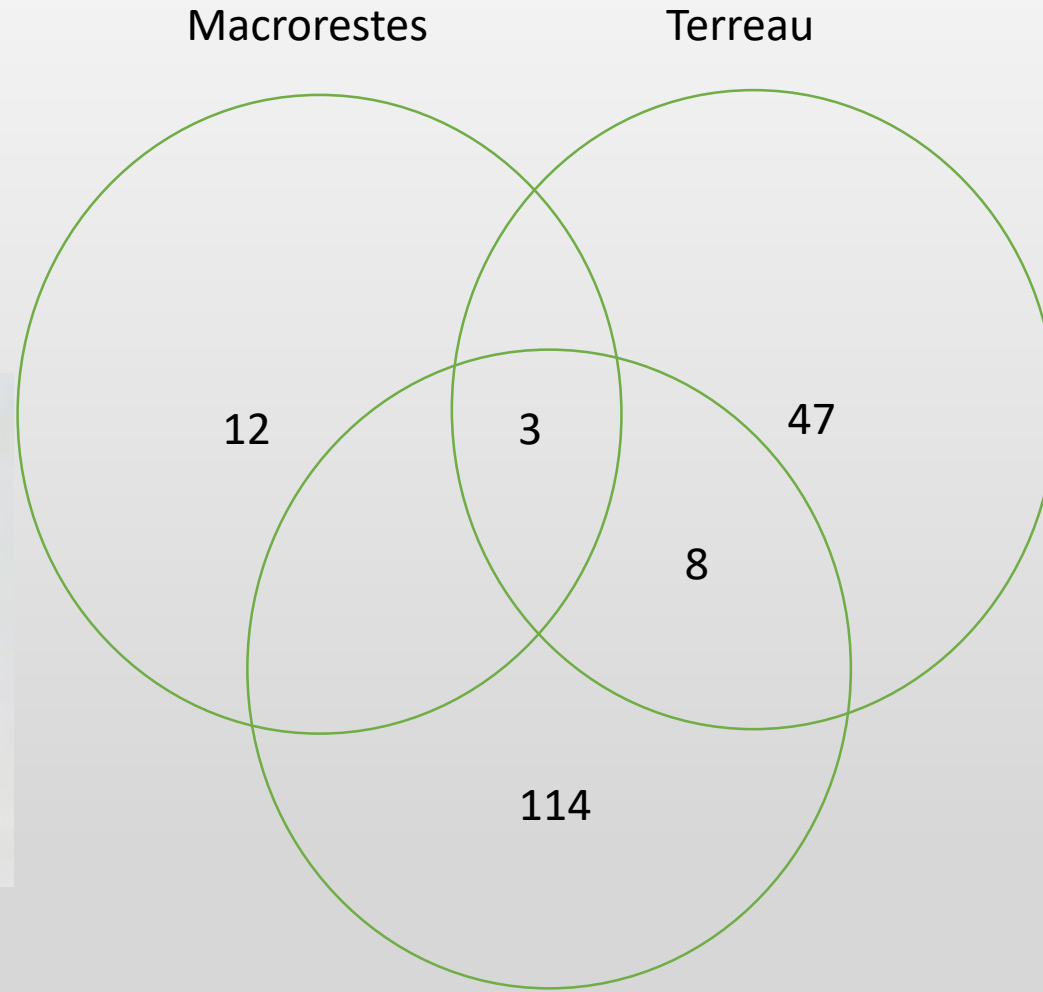
- 15 MOTUs d'insectes
- 13 identifiés au niveau espèce

- Diptera: 7 MOTUs
- Coleoptera: 7
- Psocodea: 1

Les trois méthodes sont complémentaires



Abraeus perpusillus (Histeridae)



Insectes vivants Berlésés

Prionychus ater (Tenebrionidae)



Lycoriella agraria (Sciaridae)