

Diatoms as dry-phase indicator of the ecological quality of intermittent streams: comparing potential of microscopy and DNA metabarcoding

Les diatomées comme indicateur de la qualité écologique des cours d'eau intermittents: comparaison du potentiel de la microscopie et du métabarcoding ADN

Responsables : Agnès Bouchez et Frédéric Rimet

Laboratoire d'accueil : INRAE, CARRTEL, 75bis avenue de Corzent, 74200 THONON-LES-BAINS, France
agnes.bouchez@inrae.fr, frederic.rimet@inrae.fr

Contexte et problématique

Les rivières intermittentes sont des écosystèmes dynamiques qui passent d'un état aquatique à un état terrestre. Ces écosystèmes sont de plus en plus répandus en réponse à l'évolution de la demande de ressources en eau, aux changements d'utilisation des terres et à l'évolution des facteurs climatiques (Datry et al. 2018). L'évaluation de l'état écologique des cours d'eau, requis par la directive cadre sur l'eau (DCE), repose sur des bioindicateurs tels que des communautés microalgues benthiques, et en particulier les diatomées. Cette biosurveillance repose à ce jour exclusivement sur le biote aquatique présent lors des périodes d'écoulement, y compris pour les rivières intermittentes (Stubbington et al. 2019). Cela pose de nombreuses questions telles que : quelles sont les règles d'assemblage qui prévalent pour les communautés de diatomées (e.g. Varbiro et al 2020) ? les assemblages évalués en phase d'écoulement rendent-ils compte de l'état écologique de ces cours d'eau (e.g. B-Béres et al 2019) ? révèlent-ils la présence d'assecs ? Les assemblages de diatomées en phase sèche sont-ils à même de fournir des informations complémentaires ?

Développée par INRAE CARRTEL depuis plus de 10 ans le métabarcoding ADN des communautés environnementales de diatomées (e.g. Vasselon et al 2019) est une approche haut-débit, permettant d'obtenir des inventaires de variants génétiques de diatomées aisément inter-comparables à un fin niveau taxonomique (spécifique ou intra-spécifique). Cette approche basée sur l'ADN offre une caractérisation fine des assemblages de diatomées complémentaire à celle basée sur la morphologie obtenue en microscopie. Quels éléments nouveaux sont apportés par la caractérisation génétique sur la dynamique de ces communautés dans les cours d'eau intermittents ?

Objectifs

Pour explorer ces questions, l'étudiant(e) analysera un jeu de données original acquis en collaboration avec différents partenaires européens du réseau COST SMIRES (Université d'Evora - Portugal, Malta College of Arts Science and Technology - Malte, Université de Pecs - Hongrie). Les communautés de diatomées des biofilms ont été échantillonnées dans une trentaine de sites de cours d'eau pérennes et intermittents méditerranéens (sud du Portugal et Malte) et continentaux (Hongrie), du printemps 2017 à la fin de l'été 2018. Les sites d'échantillonnage en rivière intermittente présentent une forte variabilité hydrologique et ceux du Portugal et de Malte ont été prélevés chacun sur une chronique temporelle allant de la période en eau à la période asséchée, puis à nouveau à la période en eau. Les biofilms ont été collectés selon un protocole standard soit sur des substrats durs immergés lorsque l'eau était présente (« pérenne », « faible débit », « bassins épars »), soit sur des substrats durs émergés en l'absence de conditions aquatiques. De plus les conditions environnementales locales (hydrologie, nature du site, du substrat, etc...) ont été recueillies à chaque site et date de prélèvement. Au total, une dizaine d'échantillons par site ont été collectés et analysés parallèlement en microscopie (Université d'Evora, Novais et al 2020) et en métabarcoding ADN (INRAE CARRTEL). Les échantillons de

biofilms ont été traités au laboratoire de biologie moléculaire d'INRAE CARTELE (extraction ADN, PCR d'amplification du barcode *rbcl*, préparation des librairies) puis séquencés en 2019 avec la technologie Illumina Miseq. Les données de métabarcoding ADN pourront être analysées par DADA2 (Callahan et al. 2016) et les assemblages de diatomées pourront être déterminés par assignation taxonomique des variants génétiques (ASV) en utilisant la bibliothèque de référence Diat.barcode (Rimet et al. 2019). Les assemblages de diatomées au cours des périodes « en eau » et « en assec » pourront ainsi être caractérisés par métabarcoding et comparés aux inventaires en microscopie, de manière à pouvoir apporter des hypothèses/réponses aux questions posées ci-dessus.

Encadré par deux scientifiques INRAE, l'étudiant(e) pourra ainsi acquérir des connaissances liées au fonctionnement des milieux aquatiques et à la bioindication. Par le traitement de données de séquençage massif et de données environnementales, il(elle) développera des compétences en bioinformatique et en biostatistique. Il aura également l'opportunité de découvrir au laboratoire de biologie moléculaire les différentes étapes conduisant de l'échantillon environnemental aux données de séquençage. Ce travail pourrait déboucher sur une publication scientifique.

Source de financement

Le jeu de données a été acquis dans le cadre de deux réseaux COST européens : SMIREs (<https://www.cost.eu/actions/CA15113/>) et DNAqua-Net (<https://dnaqua.net/>). Le stage sera indemnisé au tarif en vigueur. L'étudiant(e) pourra bénéficier d'une chambre sur place.

Profil recherché

Master 2, étudiant(e) motivé(e), curieux(se), autonome, avec une bonne capacité et expérience en écologie aquatique. Un goût marqué pour la bioinformatique et les biostatistiques ainsi que la maîtrise du logiciel R sont recommandés. Maîtrise souhaitée de l'anglais lu et écrit.

Références

- B-Béres V., Tothmeresz B., Bácsi I., Borics G., Abonyi A., Tapolczai K., Rimet F., Bouchez A., Várbíró G., Török P. (2019) Autumn drought drives functional diversity of benthic diatom assemblages of continental intermittent streams. *Advances in Water Resources* 126:129-136
- Callahan B. J. et al. (2016) DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat. Methods* 13, 581–583.
- Datry, T. et al. (2018) Intermittent rivers and ephemeral streams: ecology and management. Amsterdam, Netherlands: Academic Press.
- Novais M.H., Morales E.A., Penha A.M., Potes M., Bouchez A., Barthès A., Costa M.J., Salgado R., Morais M. (2020) Benthic diatom community dynamics in Mediterranean intermittent streams: Effects of water availability and their potential as indicators of dry-phase ecological status. *STOTEN* 719:137462
- Rimet F., Evgeny G., Kahlert M., Kelly M., Kulikovskiy M., Yevhen M., Mann D., Pfannkuchen M., Vasselon V., Zimmermann J., Bouchez A. (2019) Diat.barcode, an open-access curated barcode library for diatoms. *Scientific Reports* 9:15116
- Stubbington R., Paillex A., England A., Barthès A., Bouchez A., Rimet F., Sánchez-Montoya M., Westwood C.G., Datry T. A (2019) comparison of biotic groups as dry-phase indicators of ecological quality in intermittent rivers and ephemeral streams. *Ecological Indicators* 97:165–174.
- Várbíró G., Borics G., Novais M.H., Morais M.M., Rimet F., Bouchez A., Tapolczai K., Bácsi I., Usseglio-Polatera P., B-Béres V. (2020) Environmental filtering and limiting similarity as main forces driving diatom community structure in Mediterranean and continental temporary and perennial streams. *STOTEN* 741:140459
- Vasselon V., Rimet F., Domaizon I., Monnier O., Reyjol Y., Bouchez A. (2019) Assessing pollution of aquatic environments with diatoms' DNA metabarcoding: experience and developments from France water framework directive networks. *Metabarcoding and Metagenomics* 3: 101–115