

L'ADN (ADNe) et l'ARN (ARNe) environnementaux :
marqueurs du vivant dans les écosystèmes

Colloque du 28 septembre 2023

RÉSUMÉS DES EXPOSÉS

MATINÉE

Exposé N°1

Pierre TABERLET

Titre-

Introduction générale à l'ADN environnemental

Résumé-

L'exposé va commencer par une définition de l'ADN environnemental, en présentant les trois formes possibles : ADN libre, ADN adsorbé, et ADN contenu dans des cellules ou des fragments cellulaires. Au niveau historique nous présenterons l'émergence du concept d'ADN environnemental, ainsi que les études de référence. Nous examinerons ensuite les différentes techniques pour l'analyser, afin d'identifier une espèce unique, d'identifier de multiples espèces à l'aide d'une seule expérimentation par PCR (métabarcoding), et d'obtenir des informations sur les génomes et les aspects fonctionnels par séquençage massif (métagénomique). Pour terminer, nous passerons en revue rapidement les différents domaines dans lesquels l'ADN environnemental est le plus utilisé : régimes alimentaires, analyse de l'eau, analyse des sols, et analyse des sédiments.

L'objectif de l'exposé est de montrer les limites de l'utilisation de l'ADN environnemental pour la recherche et pour la gestion de la biodiversité. Une première partie concerne un article très cité dont les conclusions sont très largement exagérées. La deuxième partie traite des développements récents de l'analyse de l'ADN de l'air, à la recherche d'insectes et de vertébrés. Les attentes vis-à-vis de l'ADN environnemental sont parfois démesurées, et ne correspondent pas à ce qui est réellement possible de faire.

Exposé N°2

Lucie ZINGER

Titre-

Potentiel et limites de l'ADN environnemental et du métabarcoding ADN pour des applications en écologie

Résumé-

Au cours des dernières décennies, les outils reposant sur l'ADN environnemental (ADNe) et en particulier le métabarcoding ADNe ont ouvert de nouvelles voies pour la recherche fondamentale et appliquée en révolutionnant la façon dont nous explorons et étudions la biodiversité de différents taxons et dans différents environnements. Mais cette révolution méthodologique s'accompagne inévitablement de nouvelles limites et questions qui s'ajoutent aux difficultés intrinsèques à démêler les multiples processus écologiques et évolutifs qui

**L'ADN (ADNe) et l'ARN (ARNe) environnementaux :
marqueurs du vivant dans les écosystèmes**

Colloque du 28 septembre 2023

façonnent la biodiversité. Les inventaires moléculaires de taxons contiennent une signature qui est, par essence, différente des signatures traditionnelles et qui est encore déformée par les biais moléculaires. Cela nous amène à poser une question troublante, mais nécessaire : que pouvons-nous réellement déduire du métabarcoding ADNe ? Je tenterai d'y répondre en déroulant le processus de production et d'analyse des données de métabarcoding ADNe appliqué aux écosystèmes terrestres, et en identifiant des solutions potentielles pour mieux concilier un outils moléculaire puissant avec des questions fondamentales et appliquées sur la biodiversité.

Exposé N°3

Aurélie BONIN

Titre-

Exemples d'applications de l'ADN environnemental en agriculture

Résumé-

L'ADN environnemental est omniprésent dans les agrosystèmes, comme dans tous les écosystèmes. Il peut donc nous fournir de précieuses informations, si on sait analyser les traces d'ADNe rigoureusement. Quatre exemples d'applications de l'approche ADNe en agriculture seront développés au cours de l'exposé. Le premier cartographie la diversité bactérienne et fongique des sols à l'échelle de la France métropolitaine, sur la base de données obtenues grâce au Réseau de Mesures de la Qualité des Sols (RMQS). Le deuxième exemple nous emmène dans les Alpes. Il présente comment, avec des données de métabarcoding, on peut démontrer l'effet des modalités d'utilisation des terres sur les communautés de vers de terre en milieu montagnard. Le troisième exemple porte sur l'ensemble des organismes dans des sols agricoles. A l'aide de réseaux trophiques reconstruits avec des données de métabarcoding, il est possible d'identifier une signature d'intensification des pratiques agricoles dans les communautés du sol. Enfin, le dernier exemple s'éloigne du sol pour prendre un peu de hauteur et s'intéresser aux fleurs. Il illustre comment l'analyse des traces d'ADN d'arthropodes détectées sur les fleurs permet de reconstruire les communautés de pollinisateurs.

Exposé N°4

Bruno LINA

Titre-

Biodiversité des génomes viraux, avec un focus sur le SARS-CoV-2 : détection et analyse de la variabilité des génomes viraux dans l'environnement

Résumé-

L'analyse des voies de diffusion du SARS-CoV-2 est un enjeu important pour la compréhension de son émergence et de son extension, tant dans l'environnement, la faune animale que chez l'homme. Lors de son émergence en Chine, de nombreuses hypothèses ont été émises, du fait que les mécanismes ayant conduit à son émergence puis sa diffusion chez

**L'ADN (ADNe) et l'ARN (ARNe) environnementaux :
marqueurs du vivant dans les écosystèmes**

Colloque du 28 septembre 2023

l'homme n'ont pas être expliqués avec un fort niveau de preuve. Seules des hypothèses existent, reposant sur des données fragmentaires, dont certaines sont liées aux travaux sur l'environnement fait dans l'épicentre de l'émergence du virus : le marché des animaux vivant de Wuhan (marché Huannan). Ces données fragmentaires, décrivant à la fois les différentes séquences virales observées et les séquences des animaux potentiellement porteurs du virus sont des clefs de compréhension des étapes précoces ayant pu conduire à la diffusion du virus.

En parallèle depuis la diffusion des virus et le renforcement de la veille épidémiologique, la surveillance environnementale a été mise en place, montrant la possibilité de surveillance via les eaux usées tant pour le niveau de circulation des virus, que de la diversité génomique. Au total, l'utilisation de l'ADNe pour les virus respiratoires est un outil qui est en cours de développement pour la compréhension de l'évolution du risque viral dans le contexte « One-Health ».

Exposé N°5

Francis MARTIN

Titre-

La génomique environnementale microbienne – Diversité et fonction des communautés fongiques des sols forestiers

Résumé-

Dans les écosystèmes forestiers, les micro-organismes du sol jouent un rôle clé dans la croissance des arbres, les cycles biogéochimiques et le stockage du carbone. Parmi ces micro-organismes, les champignons du sol libèrent des enzymes facilitant la décomposition de divers composés de la matière organique du sol (MOS). De plus, de nombreux champignons établissent des symbioses mycorhiziennes qui stimulent la croissance des arbres en facilitant l'acquisition de ressources du sol. Ces champignons constituent des réseaux trophiques, capables de réagir rapidement aux variations des conditions environnementales, telles que les modifications des associations végétales, de la composition de la litière et des facteurs pédoclimatiques. Jusqu'à présent, les difficultés techniques liées à l'extraction des ARNm eucaryote du sol, ainsi que le nombre limité de génomes fongiques de référence, ont limité les approches fonctionnelles des communautés fongiques du sol. Au-delà du recensement taxonomique des champignons sylvicoles, notre programme de recherche s'efforce donc de développer les outils permettant d'estimer l'expression in situ des réseaux de gènes afin de lier écologie des communautés et écologie fonctionnelle.

Nous avons comparé la distribution des communautés fongiques et leurs caractéristiques fonctionnelles dans un large éventail d'écosystèmes forestiers, allant des forêts boréales de Suède aux forêts primaires des montagnes du Yunnan. Nous avons utilisé le séquençage haut débit d'amplicons d'ADNr pour déterminer la composition taxonomique des communautés fongiques. Ensuite, nous avons caractérisé l'expression génique de ces communautés fongiques en utilisant le séquençage de l'ARNm du sol (ARNe) et l'alignement des séquences ARN sur des génomes fongiques de référence. Nous avons ainsi mis en évidence les patrons d'expression génique au sein des guildes fongiques sous divers couverts forestiers. Les profils taxonomiques révèlent des variations marquées dans la composition des champignons saprotrophes et ectomycorhiziens entre les chênaies, les sapinières et les pessières. Malgré une variabilité taxonomique remarquable, les guildes fongiques présentent des traits

**L'ADN (ADNe) et l'ARN (ARNe) environnementaux :
marqueurs du vivant dans les écosystèmes**

Colloque du 28 septembre 2023

fonctionnels liés à la croissance et au métabolisme central étonnamment similaires suggérant une forte redondance fonctionnelle. Cependant, nous avons observé des variations significatives dans les profils d'expression des gènes impliqués dans la dégradation de la MOS, ainsi que dans le transport des sucres, des acides aminés et des minéraux, indiquant une complémentarité fonctionnelle pour ces processus majeurs d'acquisition des nutriments. En conclusion, le séquençage de l'ARNe permet désormais de lier traits génétiques et écologiques et ainsi, d'étudier les relations complexes entre les types de forêts, les communautés fongiques et les caractéristiques du sol. Ces nouvelles approches devraient nous permettre d'évaluer l'impact du changement climatique et des activités anthropiques sur le fonctionnement du microbiote des sols.

Remerciements : Je tiens à remercier mes collègues Q Zeng, A Lebreton, M Buée, L Auer, ainsi que les membres du consortium 'Metatranscriptomics of Forest Soils'.

Auer et al. (2023) Metatranscriptomics sheds light on the links between the functional traits of fungal guilds and ecological processes in forest soil ecosystems. *New Phytologist*, en révision.
Zeng et al. (2023) Stable functional structure despite high taxonomic variability across fungal communities in soils of old-growth montane forests. *Microbiome*, in press.

APRÈS-MIDI

Exposé N°6

Ludovic ORLANDO

Titre-

L'ADN fossile, une machine à remonter le temps

Résumé-

Depuis le milieu des années 1980, de nouvelles traces nous aident à mieux cerner les mondes anciens. Ces traces, infimes, ne sont pas visibles à l'œil nu mais nécessitent de puissants séquenceurs pour être décryptées. Ces traces, ce sont les molécules d'ADN préservées dans les squelettes anciens et les sédiments, venues tout droit des tréfonds du temps. Elles nous renseignent tant sur les hommes et les femmes qui peuplaient jadis ce monde, leur alimentation et leurs maladies, que sur leurs liens familiaux, leurs migrations et leurs origines, et nous révèlent une diversité parfois insoupçonnée. Elles nous dépeignent la faune et la flore qui formaient les écosystèmes du passé et comment ceux-ci ont changé au gré de grands bouleversements climatiques ou des activités humaines. C'est ainsi à un véritable voyage génétique dans le temps que nous invitent les molécules d'ADN ancien, dont les découvertes souvent surprenantes ne manquent pas d'éclairer sous un jour nouveau notre monde d'aujourd'hui.

L'ADN (ADNe) et l'ARN (ARNe) environnementaux :
marqueurs du vivant dans les écosystèmes

Colloque du 28 septembre 2023

Exposé N°7

Claire ROGEL-GAILLARD

Titre-

Sélection animale et microbiote intestinal

Résumé-

La transition agroécologique des élevages requiert l'amélioration des caractères de robustesse et d'adaptation à des environnements changeants avec une réduction de l'empreinte environnementale, conduisant à une diversification des objectifs de sélection en élevage. Outre de bonnes performances économiques, les objectifs de sélection tendent à prendre en compte la longévité, la santé et le bien-être tout en limitant l'usage des antibiotiques, l'efficacité alimentaire, la réduction des émissions de méthane, la résilience à l'échelle des systèmes. Dans ce contexte, l'étude des écosystèmes microbiens symbiotiques appelés microbiotes est un sujet en plein essor, avec une attention particulière pour le microbiote intestinal identifié comme un levier d'action à fort potentiel en élevage. Constitué de l'ensemble des communautés microbiennes qui résident et se multiplient dans le tube digestif, le microbiote intestinal assure de multiples fonctions qui complètent celles de l'hôte : contribution à la digestion d'aliments fibreux pas ou peu digestibles, synthèse de vitamines et d'acides gras à chaînes courtes, maturation du système immunitaire, etc. De plus, chez les ruminants, la fermentation dans le rumen est la source principale de production de méthane par l'élevage. De nombreux travaux sont engagés pour étudier les relations entre composition du microbiote intestinal et caractères à améliorer chez les animaux d'élevage, afin d'identifier des microbiotes favorables et des solutions pour les orienter. Il existe une forte variabilité inter-individuelle de la composition du microbiote intestinal, y compris dans des groupes d'animaux élevés en milieu contrôlé et partagé. Parmi les questions que pose cette variabilité inter-individuelle du microbiote : quel déterminisme ? Quels liens avec des caractères d'intérêt en élevage ? Quel usage en faire ? Des études quantifient la part de variabilité du microbiote qui influe sur la variation des phénotypes des animaux. S'est développé le concept de microbiabilité ou m^2 , avec des valeurs significatives par exemple pour la prise alimentaire, le gain moyen quotidien chez le porc. Ainsi, il y a des covariations significatives entre des phénotypes animaux et la composition du microbiote intestinal, illustrant que le microbiote serait une composante importante à inclure dans les index de sélection. Une question fort débattue est la part respective de l'environnement et de la génétique de l'hôte dans le façonnage du microbiote intestinal. L'influence forte de l'environnement et de l'alimentation sont bien reconnues mais l'importance de la génétique de l'hôte reste à évaluer. Des études récentes mettent en évidence qu'il existe un contrôle génétique de l'hôte notable, avec une héritabilité de l'abondance relative de certains genres bactériens constitutifs du microbiote intestinal, pouvant atteindre 0.4 chez le porc. Le projet Enterotypig financé par INRAE (département de génétique animale et métaprogramme (HOLOFLUX) a permis une démonstration expérimentale que le microbiote intestinal chez le porc peut être modifié par une sélection génétique directionnelle, avec des niveaux de réponse en accord avec les prédictions, via la constitution de deux lignées divergentes pour leur microbiote intestinal (microbiote fécal) et leur suivi sur plusieurs générations.

**L'ADN (ADNe) et l'ARN (ARNe) environnementaux :
marqueurs du vivant dans les écosystèmes**

Colloque du 28 septembre 2023

Trois priorités en élevage stimulent fortement les recherches sur le microbiote intestinal et plus largement le microbiote digestif : réduire les émissions de méthane, améliorer la santé et le bien-être et optimiser l'efficacité alimentaire, avec la nécessité d'évaluer et de prendre en compte les compromis fonctionnels. Les holobiontes qui associent les hôtes et leur microbiote sont des entités qui devraient progressivement être considérées comme des unités de sélection dans les futurs programmes d'amélioration génétique, valorisant les microbiotes en tant que nouvelles ressources génétiques à caractériser et préserver.

Exposé N°8

Erwan QUÉMÉRÉ

Titre-

Études sur l'ADNe pour décrire les régimes alimentaires de mammifères (singes, félins et loutres)

Résumé-

Le régime alimentaire influence de nombreuses caractéristiques écologiques fondamentales des espèces (morphologie, habitat, distribution, comportement, stratégie d'histoire de vie, etc.). Ainsi, l'étude la diversité et plasticité des régimes alimentaires permet de mieux comprendre et prédire les trajectoires démographiques des populations et la dynamique des communautés dans différents contextes de gestion et de conservation (invasion biologique, dégradation des habitats, conflit d'usage avec l'Homme, etc.). Je présenterai quelques cas d'études sur des mammifères herbivores ou carnivores pour illustrer les avantages et limites de l'analyse d'ADNe digestif par rapport aux approches classiques (observation comportementale, analyse morpho-taxonomique ou isotopique). Je discuterai également du potentiel de ces outils pour l'étude de la structure des réseaux d'interactions trophiques et de la qualité fonctionnelle des écosystèmes.

Exposé N°9

Yves BRUNET

Titre-

L'ADN environnemental ne manque pas d'air

Résumé-

Dans la littérature scientifique traitant de microbiologie environnementale, l'atmosphère est sans doute le compartiment ayant jusqu'à présent reçu le moins d'attention. À la fois réservoir et lieu de transfert, il occupe pourtant une place fondamentale dans le cycle du vivant. Les premières observations sur les microbes en suspension dans l'air datent du XVII^{ème} siècle (Antony van Leeuwenhoek) et les premières expériences sur la dispersion aérienne des bactéries remontent au XIX^{ème} siècle (Louis Pasteur), avant que fût reconnue l'importance du compartiment aérien pour la sécurité des interventions chirurgicales. Ces cinquante dernières années ont vu un grand développement, dans un triple contexte écologique, agricole

**L'ADN (ADNe) et l'ARN (ARNe) environnementaux :
marqueurs du vivant dans les écosystèmes**

Colloque du 28 septembre 2023

et sanitaire, d'études sur les pollens, les champignons et les bactéries, qui constituent le cœur de « l'aérobiologie ». Pour diverses raisons évoquées dans cet exposé, l'introduction des nouvelles techniques génomiques s'est toutefois faite plus lentement dans ce domaine de l'environnement que dans ceux de l'eau et du sol. Après quelques mots d'introduction sur les bioaérosols (particules d'origine biotique en suspension dans l'atmosphère), leurs caractéristiques et les contextes de recherche dans lesquels s'inscrit leur étude, on évoquera les difficultés métrologiques liées à leur collecte et leur analyse. Seront ensuite passées en revue les récentes avancées qu'a permises l'ADN environnemental dans les domaines classiques de l'aérobiologie : meilleure caractérisation des espèces aéroportées par rapport aux techniques classiques, description fine des communautés aériennes et de leurs co-occurrences, possibilité d'approches fonctionnelles, mise en évidence de liens avec les activités anthropiques et les changements environnementaux. On montrera que ces approches ne se limitent pas à l'étude des plantes, bactéries et champignons, mais permettent d'étendre les investigations aux insectes et au monde animal dans son ensemble, dont l'ADN se retrouve en traces dans l'atmosphère, de manière ubiquiste. On décrira la structuration spatiale et temporelle de l'aérobiome à toutes les échelles d'intérêt, du local au global, et on montrera comment on peut déterminer les voies de dispersion et remonter aux sources. On conclura sur le grand intérêt du suivi de l'ADN environnemental dans l'atmosphère, et on proposera des pistes et priorités de recherche.

Exposé N°10

Patrick WINCKER

Titre-

ADN et ARN environnementaux : découverte et fonctions

Résumé-

La détection simultanée d'ADN et d'ARN dans l'environnement permet théoriquement de définir l'activité d'un organisme dans une condition donnée et de la comparer à son potentiel codant. Une autre application est de détecter des virus à ARN inconnus et les génomes de leurs hôtes putatifs. Les génomes présents peuvent être reconstitués, ouvrant la voie à une analyse génomique d'organismes incultivés, ainsi que de leurs symbiontes et pathogènes. En prenant pour exemple des écosystèmes aquatiques, nous montrons qu'il est possible avec les méthodes récentes d'analyser les génomes d'organisme présents et d'étudier leur transcription, afin d'étudier à l'échelle du gène la variation spatiale et temporelle de ces communautés.