

Titre du stage de M2 :

Évaluation et suivi de la biodiversité marine à partir d'outils génomiques – comparaison des marqueurs moléculaires.

Sujet développé :

Les ARMS (*Autonomous Reef Monitoring Structures*) sont des collecteurs passifs utilisés pour échantillonner et suivre la diversité de la cryptofaune marine, selon le protocole du programme mondial ARMS (cf. www.oceanarms.org). Un ARMS se présente comme un assemblage de plaques en PVC, fixé au substrat, plaques qui vont être colonisées par des espèces marines. En raison de leur structure tridimensionnelle imitant la complexité des habitats marins à fond dur, ils attirent à la fois les formes fixées et encroûtantes (éponges, ascidies, coraux, etc.) et les organismes mobiles (crustacés, mollusques, polychètes, etc.). La principale innovation de l'ARMS est sa capacité à échantillonner les communautés marines de manière identique, fournissant ainsi une mesure de la biodiversité standardisée et quantifiable. Cette répétabilité d'échantillonnage est un atout important pour répondre à des questions de recherche variées : surveillance de la diversité dans le temps, exploration des effets des aires marines protégées sur la biodiversité ou quantification des impacts humains. Les ARMS combinés aux puissantes nouvelles méthodes moléculaires telles que le séquençage à haut débit permettent d'étudier des communautés entières microbiennes, procaryotes et eucaryotes. Bien que les méthodes soient standardisées, les marqueurs moléculaires employés restent discutés, car il est souvent nécessaire de faire un choix entre la facilité d'obtention des séquences et la finesse de résolution dans l'identification, ces paramètres variant de plus entre les groupes taxonomiques. Employer un marqueur difficile à obtenir risque de biaiser la diversité identifiée par rapport à la diversité présente, tandis qu'un marqueur peu variable ne permettra pas d'identifier précisément les espèces proches, et risque de ne pas permettre pas la détection de remplacements d'espèces par d'autres en cas de changements du milieu.

Objectifs du stage :

À ce jour, deux séries de 9 ARMS installées sur les pentes externes des récifs coralliens à Rodrigues et à La Réunion ont été récoltées ou le seront prochainement. L'objectif du présent projet est d'étudier la diversité des organismes collectés sur ces ARMS afin d'évaluer la résolution taxonomique associée aux différents sites par le biais d'outils génomiques de type métabarcoding. L'étudiant explorera plusieurs alternatives de marqueurs et d'amorces pour les comparer d'un point de vue robustesse de l'amplification, finesse de la résolution taxonomique, et spectre taxonomique pour repérer les groupes d'espèces non amplifiés et donc non détectés par chaque marqueur. Il comparera les données génomiques obtenues par l'utilisation des amorces les plus récentes du COI préconisées par le programme ARMS avec celles d'amorces amplifiant des ADNr nucléaires et mitochondriaux (18S et 16S), qui présentent des caractéristiques de variabilité et de robustesse très différents.

Activités au sein de ce stage :

La personne recrutée pour ce travail de stage devra réaliser les différentes étapes de l'étude avec 4 encadrants assurant une approche complémentaire :

- Tri par morpho-espèces pour certains embranchements des échantillons >2mm et sous-échantillonnage pour analyses génétiques ;
- Extractions d'ADN des différentes parties du matériel récolté ;
- Préparation des PCRs et des banques ;
- Utilisation des outils bioinformatiques pour analyser les résultats de séquençage ADN à haut débit ;
- Etude comparative des séquences obtenues pour déterminer les points forts et les points faibles de chacune des amorces et marqueurs, et éventuellement l'intérêt de leur utilisation complémentaire ;
- Réflexion sur les autres amorces choisies (ex. comparaison par alignement [blast], arbre phylogénétique sur l'ensemble des séquences trouvées en libre accès, regroupement par OTU's et assignement de ces OTU's, différenciation entre sites de chaque marqueur métabarcoding (ex. distance de Bray-Curtis par les analyses de SIMPER) ;
- Réalisation du rapport d'étude, et selon les résultats, de participation à une publication scientifique.

Compétences qui seront acquises le long de ce travail de stage :

- Identification morphologique de grands groupes de métazoaires marins ;
- Technique moléculaire (extraction d'ADN, maîtrise des procédés en laboratoire moléculaire, design des amorces ;

- Analyses bio-informatiques (alignement ; ObiTools ; packages R en taxonomie et phylogénie, biodiversité et traitement de séquence) ;
- Ecriture de rapport scientifique et expression orale.

Compétences attendues :

- Intérêt fort pour le travail en laboratoire d'analyse moléculaire et pour la génétique ;
- Maîtrise des cours de génétique suivis au cours des filières classiques SVT en biologie ;
- Maîtrise du langage R ;
- Rigueur et autonomie ;
- Travail en équipe.

Organisme d'accueil :

UMR ENTROPIE, Université de La Réunion (St-Denis) ; Muséum National d'Histoire Naturelle ; Agence de Recherche pour la Biodiversité à la Réunion (ARBRE).

Le déplacement entre Paris et La Réunion ne pourra être pris en charge.

Maître de stage (nom, prénom, email, téléphone) :

Henrich Bruggemann - UMR ENTROPIE Université de La Réunion-CNRS-IRD,
henrich.bruggemann@univ-reunion.fr ; 02 62 93 86 86

Encadrement (si différent du Maître de stage) :

Natacha Nikolic (IRD, ARBRE, UMR MARBEC IRD-IFREMER-UM-CNRS) ; Agnès Dettai (MNHN, UMR ISYEB MNHN-CNRS-UPMC-EPHE), Mireille Guillaume (MNHN, UMR BOREA MNHN-SU-UCN-UA-CNRS-IRD).

Planning prévisionnel :

Durée 6 mois, entre janvier et juin 2019 :

1/ recherche et rapport bibliographique ;

2 / tri des morpho-espèces et sous-échantillonnage ;

3/ extraction d'ADN, choix voire design des amorces en concertation avec les encadrants, PCR, envois des PCRs ;

4 / analyses et interprétations des résultats ;

5/ rédaction du rapport et soutenance orale.

Perspective de thèse et type de financement le cas échéant :

Si candidat satisfaisant, une poursuite en thèse pourra être envisagée, sous réserve de l'obtention d'un financement. Celui-ci sera sollicité auprès du Conseil Régional de La Réunion, du LabEx CORAIL et du Ministère de l'Éducation Nationale.

Références bibliographiques majeures :

Boissin E, Hoareau TB, Paulay G, **Bruggemann JH** (2017) DNA barcoding of reef brittle stars (Ophiuroidea, Echinodermata) from the southwestern Indian Ocean evolutionary hot spot of biodiversity. *Ecology and Evolution* 7. (doi:10.1002/ece3.3554)

Hinsinger DD, Debruyne R, Thomas M, Denys GPJ, Mennesson M, Utge J, **Dettai A** (2017) Fishing for barcodes in the Torrent: from COI to complete mitogenomes on NGS platforms. *DNA Barcodes* 2015; 3: 170–186

Hubert N, Meyer C, **Bruggemann JH**, Guérin F, Komono RJL, Espiau B, Causse RWilliams JT, Planes S (2012) Cryptic diversity in IndoPacific coralreef fishes revealed by DNA-barcoding provides new support to the Centre-of-Overlap hypothesis. *PLoS ONE* 7(3): e28987

Knowlton N, Brainard RE, Fisher R, et al. (2010) Coral reef biodiversity. Dans: McIntyre A (ed). *Life in the World's Oceans*. Wiley

Leray M, Knowlton N (2015) DNA barcoding and metabarcoding reveal patterns of diversity in cryptic benthic communities. *Proc Natl Ac Sci USA* : doi/10.1073/pnas.1424997112

Leray M, Knowlton N (2015) DNA barcoding and metabarcoding of standardized samples reveal patterns of marine benthic diversity. *Proc. NatlAcad. Sci. USA* 112, 2076–2081. (doi:10.1073/pnas.1424997112)

Leray M, Yang JY, Meyer CP, et al. (2013) 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. *Frontiers in Zoology* 10(34)

- Postaire B, Magalon H, Bourmaud CAF, **Bruggemann JH** (2016) Molecular species delimitation methods and population genetics data reveal extensive lineage diversity and cryptic species in Aglaopheniidae (Hydrozoa). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 105: 36–49
- Wangensteen OS, Palacín C, Guardiola M, Turon X (2017) Metabarcoding littoral hard-bottom communities: unexpected diversity and database gaps revealed by two molecular markers. *PeerJ* 6:e4705; DOI 10.7717/peerj.4705