

➤ ADN environnemental et métabarcoding : vers de nouveaux indicateurs pour la santé des sols

Mickael HEDDE – INRAE

Alice VALENTINI – SPYGEN

INRAE

SPYGEN

➤ Enjeux autour de la biodiversité des sols et des transitions agroécologiques

La biodiversité des sols

Un moteur invisible mais essentiel

Difficile à inventorier

Pressions croissantes sur les sols



➤ Limites des approches classiques

Chronophages et coûteuses

Dépendance à l'expertise taxonomique

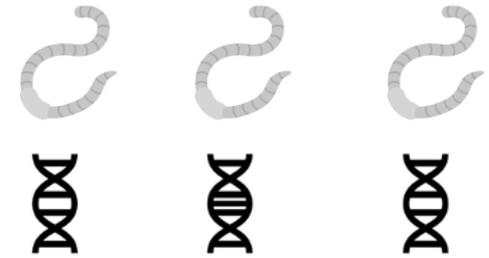
Sensibles aux climats, aux préleveurs, etc

Difficulté de suivi standardisé à large échelle



➤ Intérêt croissant pour les approches métabarcoding de l'ADNe

Accès à la biodiversité cachée



Standardisable et automatisable



Couverture large et multi-taxa

Forte dynamique scientifique et technique



➤ Approches métabarcoding de l'ADNe

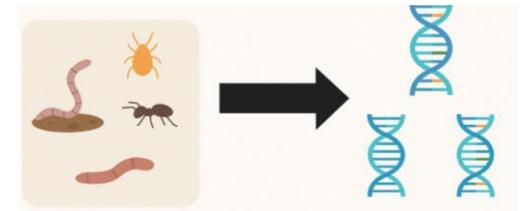
Qu'est-ce que l'ADN environnemental (eDNA) ?

- L'ADN qui peut être extrait d'échantillons environnementaux (tels que le sol, l'eau ou l'air), sans isoler au préalable aucun organisme cible
- Il s'agit d'un mélange d'ADN cellulaire (e.g. micro-organismes) et extracellulaire relargué par les organismes dans leur environnement



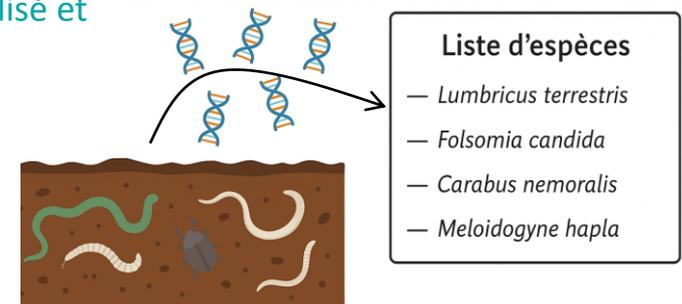
Qu'est-ce que le métabarcoding ?

- Technique consistant à amplifier un gène "code-barres" à l'aide d'amorces spécifiques d'un groupe taxonomique, à partir de l'ADN extrait d'un échantillon environnemental complexe, couplée à un séquençage haut débit.



Résultat : une liste d'espèces (ou de taxons) détectées dans l'échantillon

- Résolution taxonomique dépendante du marqueur génétique utilisé et des bases de référence.
- Pas toujours de lien direct avec l'abondance ou la biomasse.



➤ Approches métabarcoding de l'ADNe



1
SAMPLE
COLLECTION



2
eDNA
EXTRACTION



3
eDNA
AMPLIFICATION



4
eDNA
SEQUENCING



5
BIOINFORMATICS
ANALYSIS

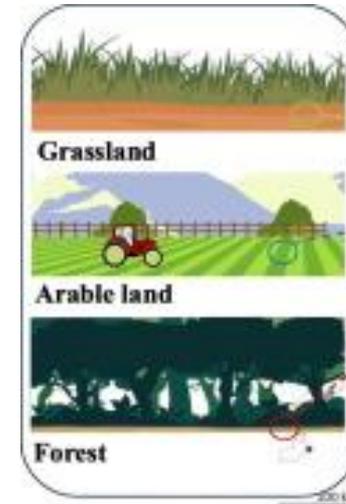


6
ANALYSIS vs
REFERENCE DATABASE
=> RESULTS

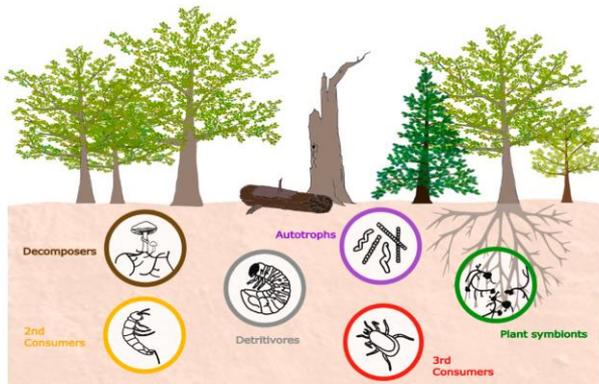
➤ Exemples d'écosystèmes étudiés



Dumas et al. (2024)



Cuartero et al. (2025)



Leclerc et al. (2023)

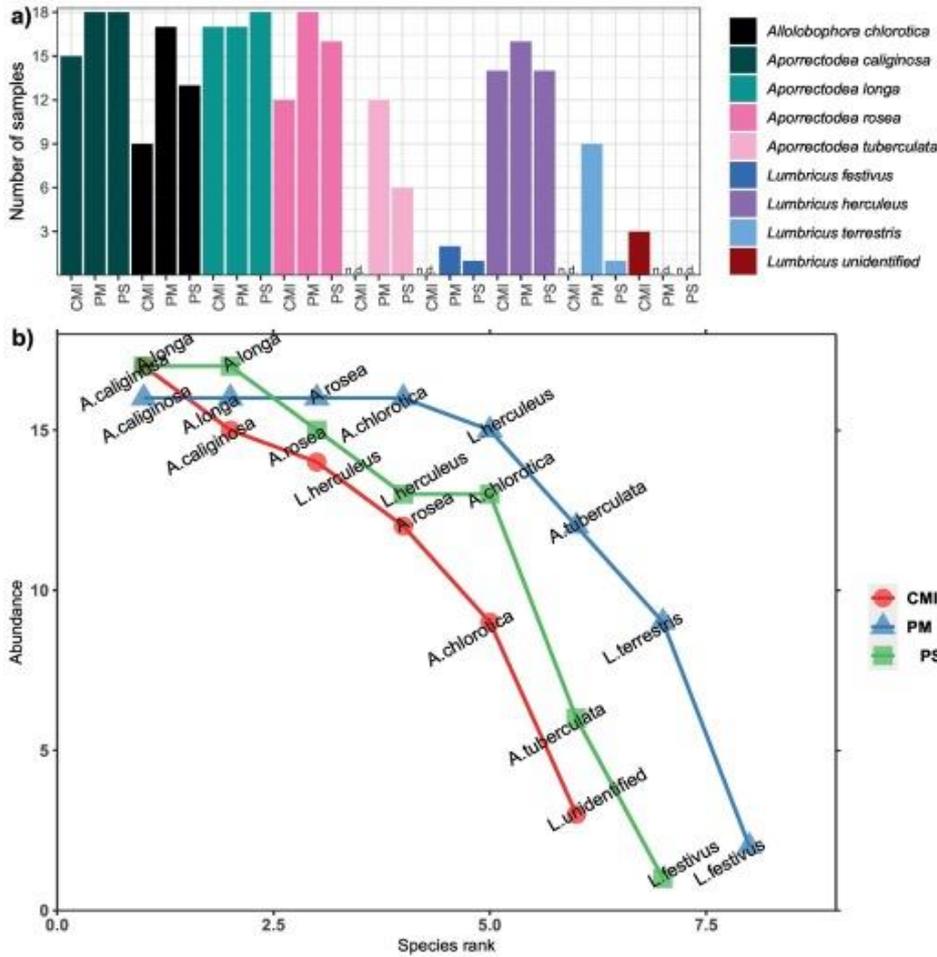


Hagner et al. (2023)

Comparing earthworm biodiversity estimated by DNA metabarcoding and morphology-based approaches

Mille Anna Lilja ^{a b 1}, Živilė Buivydytė ^{a b 1}, Athanasios Zervas ^b, Paul Henning Krogh ^c, Benni Winding Hansen ^a, Anne Winding ^b, Rumakanta Sapkota ^b

➤ Comparer ADNe et morphologie



Certaines espèces n'ont pas été observées par tri manuel

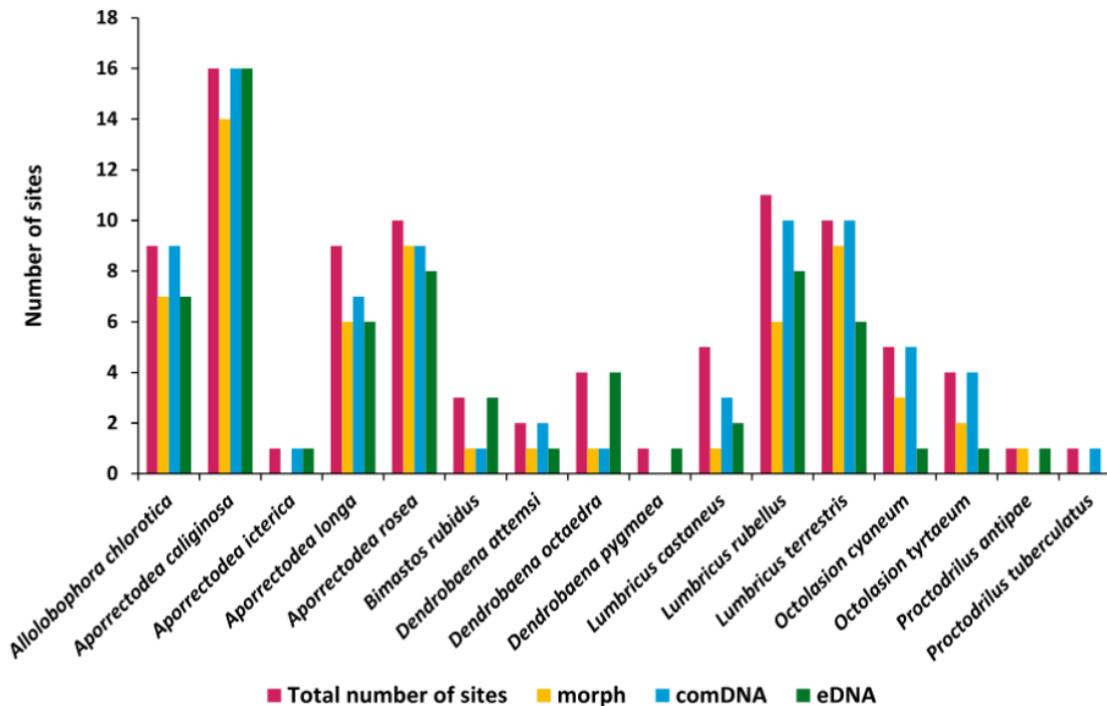
ADNe détecte plus d'espèces, sur le même nombre de sites voire plus de sites

Tri manuel
ADNe

➤ Comparer ADNe et morphologie

Comparison of Morphological and DNA-Based Identification Methods to Assess Earthworm (Clitellata: Lumbricidae) Diversity at 25 Permanent Soil Monitoring Sites in Germany

Stephan Jänsch¹ | Daniela Alves² | Luis Cunha³ | Paul Henning Krogh⁴ | Tiago Natal-da-Luz¹ | Verónica Rogo⁵ | Jörg Römke⁶ | Rumakanta Sapkota⁴ | Adam Scheffczyk¹ | Rüdiger M. Schmelz⁷ | Leticia Scopel⁸ | José Paulo Sousa¹ | Joaquín Vierna⁹ | Antón Vizcaino⁹



Certaines espèces n'ont pas été observées par tri manuel

ADNe détecte plus d'espèces, sur le même nombre de sites voire plus de sites

➤ Co-extraction et amorces optimisées : des leviers d'amélioration

Co-extraction : un gain d'efficacité pour les sols

- À partir d'un échantillon de sol, l'ensemble de l'ADN présent est extrait sans ciblage spécifique, ce qui permet d'analyser différents groupes taxonomiques en parallèle (e.g. vers de terre, microarthropodes, champignons, etc.).
- Réduction du nombre d'échantillons et d'étapes de manipulation.
- Adaptation nécessaire à la complexité du sol (MOS, argile, inhibiteurs...).

Amorces optimisées : meilleure couverture taxonomique

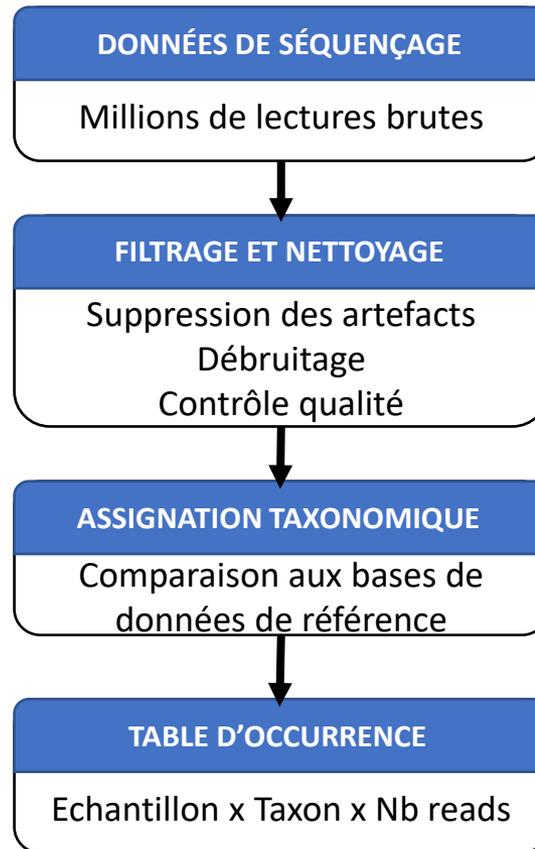
- Conception d'amorces plus universelles ou spécifiques selon les cibles (ex. vers de terre, nématodes).
- Tests *in silico* + *in vitro* + *in situ* pour évaluer la sensibilité, la spécificité et la compatibilité avec les séquenceurs.
- Éviter les biais d'amplification (dominance de certains taxons)

Vers des kits et protocoles adaptés aux suivis opérationnels

- Mutualisation des efforts (réseaux de recherche, plateformes).
- Développement de protocoles standardisés inter-laboratoires.

➤ Pipelines bioinformatiques : de la lecture brute à la biodiversité interprétable

Objectif : obtenir une table d'occurrence fiable par taxon et par échantillon



➤ Qualité des données & reproductibilité : des conditions clés pour un indicateur fiable



1
SAMPLE
COLLECTION



2
eDNA
EXTRACTION



3
eDNA
AMPLIFICATION



4
eDNA
SEQUENCING

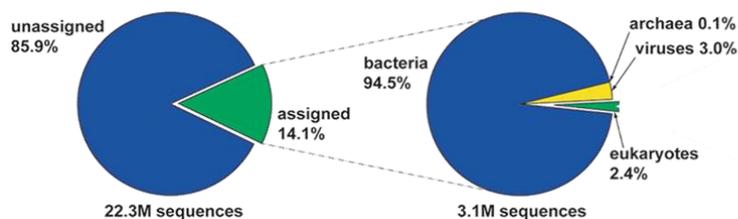


5
BIOINFORMATICS
ANALYSIS



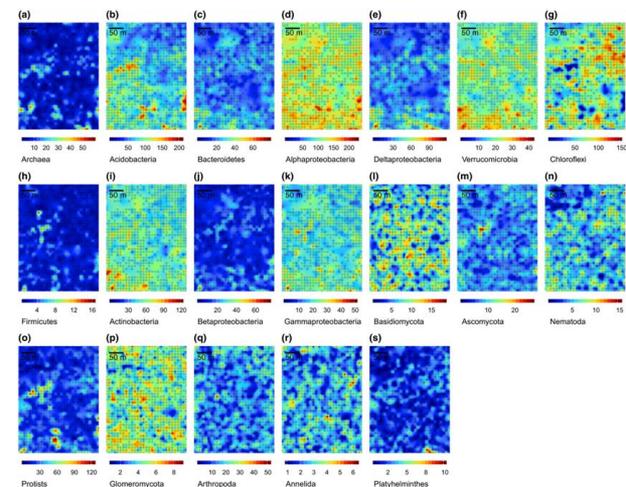
6
ANALYSIS vs
REFERENCE DATABASE
=> RESULTS

Protocole adapté à la question scientifique et au groupe taxonomique étudié



Stat et al. 2019

INRAE



Zinger et al. 2019

➤ Qualité des données & reproductibilité : des conditions clés pour un indicateur fiable



Soil Biology & Biochemistry 39 (2007) 2977–2991

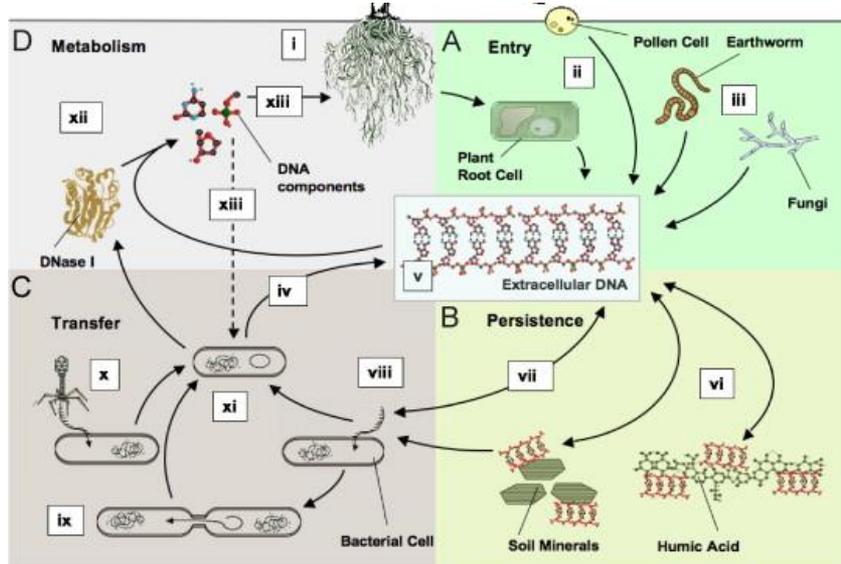
Soil Biology & Biochemistry

www.elsevier.com/locate/soilbio

Review Article

Cycling of extracellular DNA in the soil environment

David J. Levy-Booth^a, Rachel G. Campbell^b, Robert H. Gulden^b, Miranda M. Hart^a, Jeff R. Powell^c, John N. Klironomos^c, K. Peter Pauls^b, Clarence J. Swanton^b, Jack T. Trevors^{a,*}, Kari E. Dunfield^{d,**}



MOLECULAR ECOLOGY

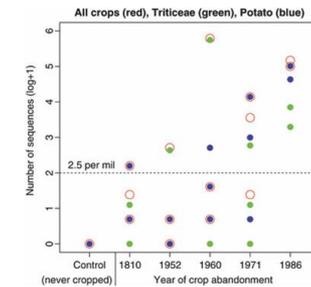
Molecular Ecology (2012)

doi: 10.1111/j.1365-294X.2012.0545.x

FROM THE COVER

DNA from soil mirrors plant taxonomic and growth form diversity

N. G. Yoccoz,^{*} K. A. Bråthen,[†] L. Gjelv,[†] J. Haile,[‡] M. E. Edwards,[§] T. Goslar,^{**} H. von Stedingk,[†] A. K. Brything,[†] H. E. Coissac,[†] F. Pompanon,[†] J. H. Sönstebø,[†] C. Miquel,[†] A. Valentini,[†] F. de Bellis,[†] J. Chave,^{§§} W. Thuiller,[†] P. Wincker,^{¶¶} C. Cruiard,^{††} E. Gavory,^{††} M. Rasmussen,[†] M. T. P. Gilbert,[†] L. Orlando,[†] C. Brochmann,[†] E. Willerslev,[†] and P. Taberlet.[†]



ARTICLE

doi:10.1038/nature12921

Fifty thousand years of Arctic vegetation and megafaunal diet

Eske Willerslev^{1,4}, John Davison^{2,4}, Mari Moora^{3,4}, Martin Zobel^{3,4}, Eric Coissac⁴, Mary E. Edwards⁴, Eline D. Lorenzen^{1,2,4}, Mette Vestergaard⁴, Galina Gassanova^{4,5}, James Hails^{6,8}, Joseph Craine⁷, Ludovic Gjelv⁹, Sanne Boessenkool¹⁰, Laura S. Epp¹¹, Peter B. Pearman¹², Kacihid Chedda¹³, David Murray¹⁴, Kari Anne Bråthen¹⁵, Nigel Yoccoz¹⁶, Heather Holmes¹⁷, Corinne Cruaud¹⁸, Patrick Wincker¹⁹, Tomaz Goslar^{20,21}, Inger Greve Alsos²², Eva Bellemain¹, Anne Krag Brysting²³, Reidar Elven²⁴, Jørn Henrik Sønstebø²⁵, Julian Marlon²⁶, Andrei Sher²⁷, Morten Rasmussen²⁸, Regin Rønn²⁹, Tobias Mourier³⁰, Alan Cooper³¹, Jeremy Austin³², Per Möller³³, Duane Froese³⁴, Grant Zanis³⁵, François Pompanon³⁶, Delphine Rioux³⁷, Vincent Niderkorn³⁸, Alexei Ekhamov³⁹, Grigoriy Savvinov⁴⁰, Richard C. Roberts⁴¹, Ross D. E. MacPhee⁴², M. Thomas P. Gilbert⁴³, Kari H. Kjær⁴⁴, Ludovic Orlando⁴⁵, Christian Brochmann⁴⁶ & Pierre Taberlet⁴⁷

➤ Qualité des données & reproductibilité : des conditions clés pour un indicateur fiable



1
SAMPLE
COLLECTION



2
eDNA
EXTRACTION



3
eDNA
AMPLIFICATION



4
eDNA
SEQUENCING



5
BIOINFORMATICS
ANALYSIS



6
ANALYSIS vs
REFERENCE DATABASE
=> RESULTS

Rigueur dès
l'échantillonnage

Traçabilité
bioinformatique

Reproductibilité des
analyses moléculaires

Fiabilité des
résultats

➤ Verrous et limites

Interprétation écologique des données
abondance, biomasse ?

Incomplétude des bases de référence

Sensibilité aux conditions environnementales

Besoin de standardisation

➤ Perspectives opérationnelles

Complémentarité avec les méthodes classiques

Scénarios d'intégration dans les suivis nationaux

Co-construction avec les acteurs du terrain

➤ On going !

RMQS-biodiversité

SPYGEN – Auréa – INRAE

➤ Conclusion

L'ADNe ouvre une fenêtre inédite sur la biodiversité des sols

Forte complémentarité avec les approches traditionnelles

Vers une intégration raisonnée, robuste et utile pour les transitions

➤ ADN environnemental et métabarcoding : vers de nouveaux indicateurs pour la santé des sols

Mickael HEDDE – INRAE

Alice VALENTINI – SPYGEN