



© JN Galliot

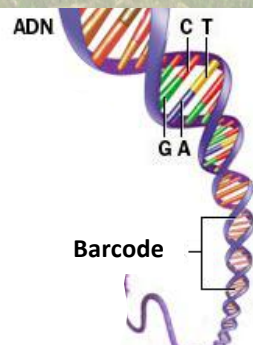
LE DNA BARCODING

UN OUTIL À DÉVELOPPER POUR ÉTUDIER LES PROCESSUS DE POLLINISATION

*Jean-Noël Galliot (INRA EPGV - UMRH), Anne Farruggia (INRA UMRH),
Dominique Brunel (INRA EPGV), Aurélie Bérard (INRA EPGV)*



© JN Galliot

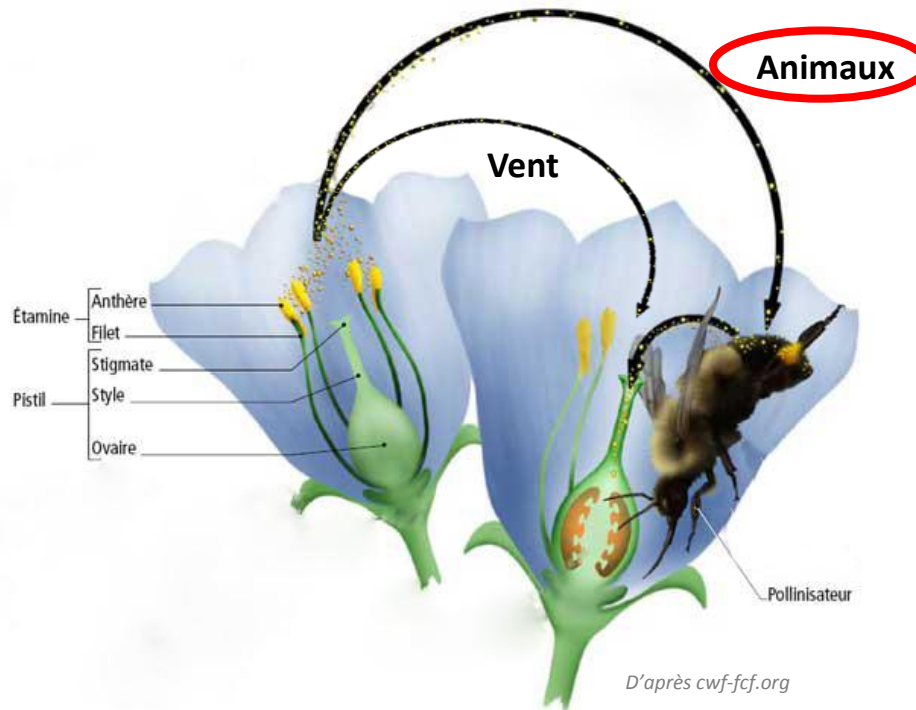


© JN Galliot



La pollinisation : définition et enjeux

Pollinisation : Processus de transfert du pollen des étamines aux pistils



88% des plantes à fleurs seraient pollinisées par des animaux (Ollerton *et al.*, 2011)

Les interactions plantes pollinisateurs



Lépidoptères

Hyménoptères



Photo : A. Berthier

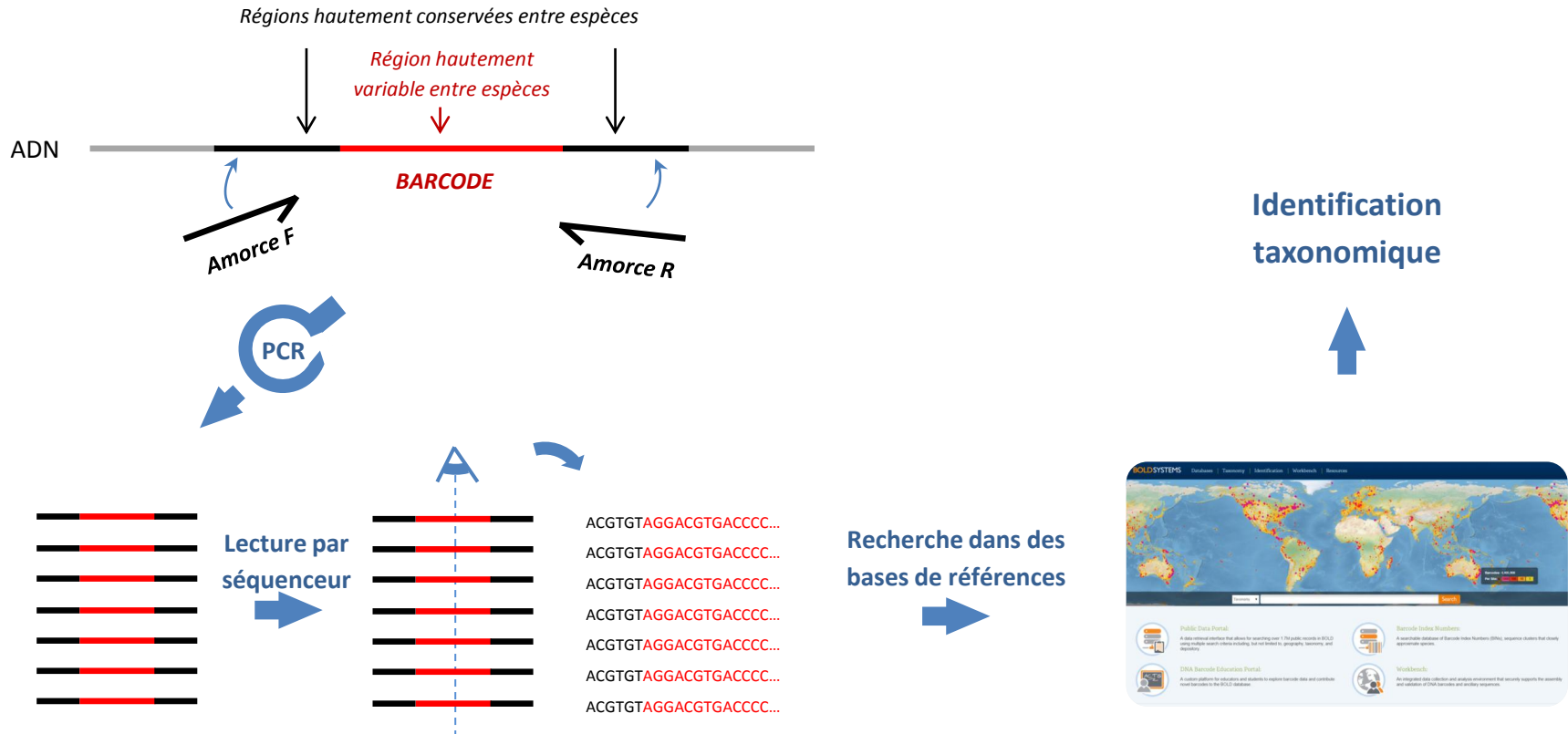


Coléoptères

Diptères



Le DNA barcoding, un nouvel outil pour les analyses écologiques



Objectifs et moyens mis en œuvre

Question

Quels sont les insectes butineurs, les fleurs visitées et les pollens transportés dans les prairies ?

Objectifs



Observer pour mieux connaître

Développer une méthode basée sur le barcoding



Prospections sur le terrain

Observations

Capture des insectes

Labo

Analyse de données

Identification des insectes et pollens transportés par barcoding

Identification des insectes par un naturaliste

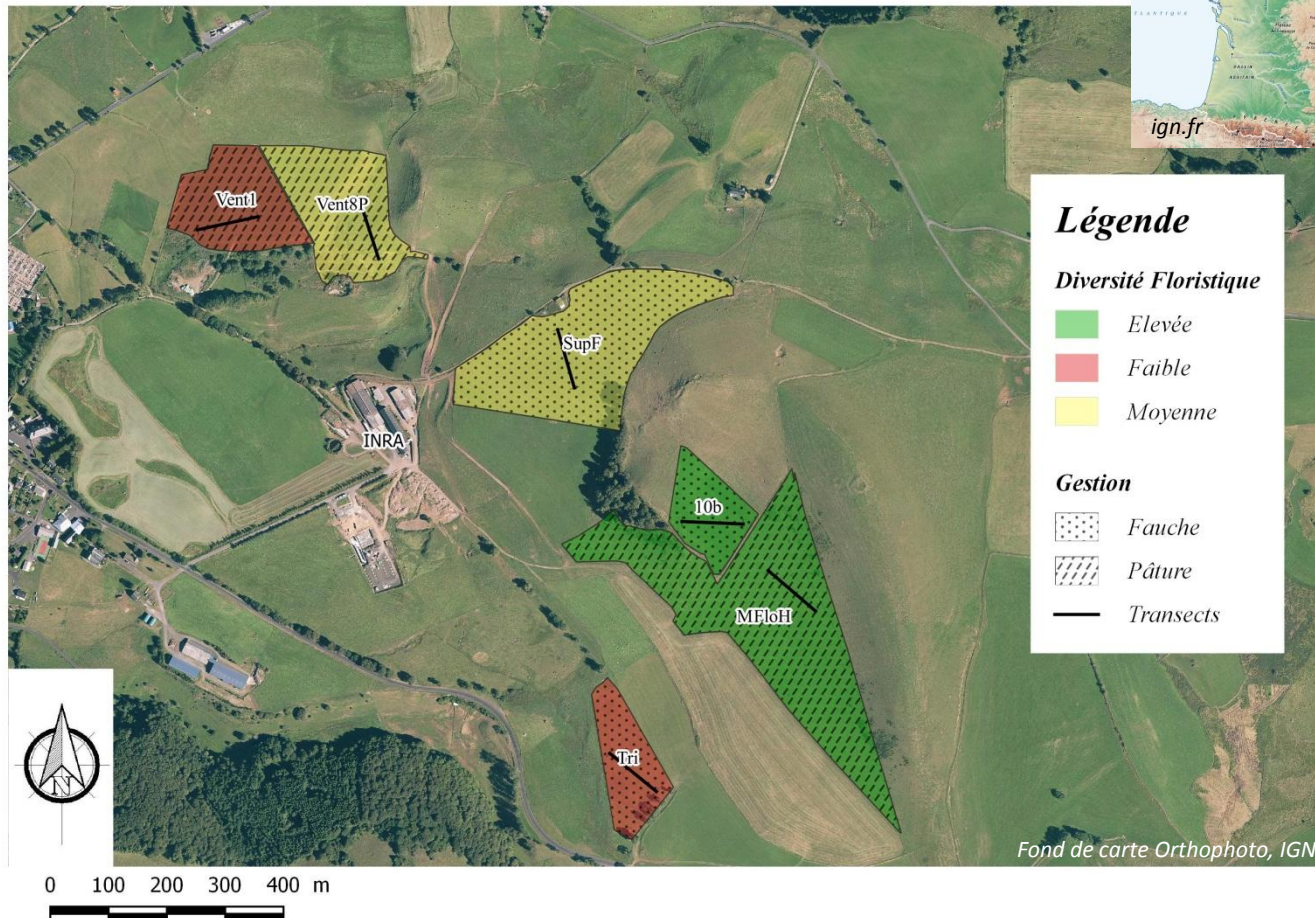
Validation

Validation

1. Prospections de terrain

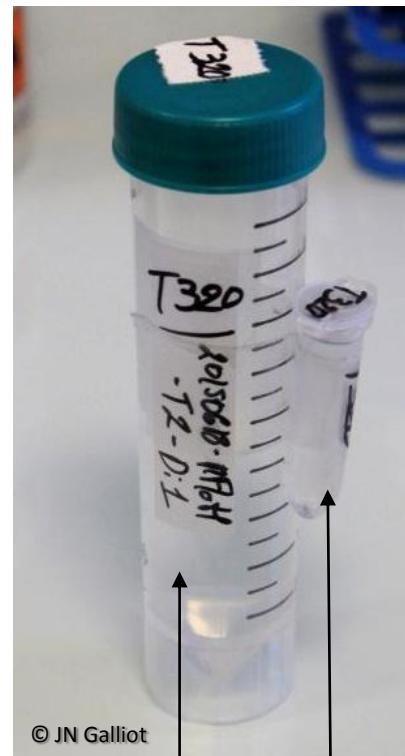
2. Analyse par barcoding

- Transects dans 6 prairies
- 3 campagnes
- Capture des insectes butineurs





210
insectes
butineurs



2 pattes
avant

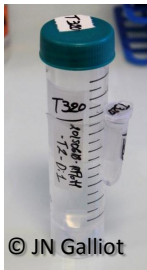
Pollen en
solution

1. Prospections de terrain

2. Analyse par barcoding

210

**insectes avec leurs
cortèges de pollens**

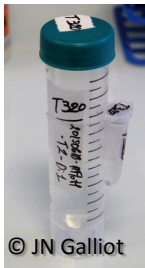


© JN Galliot

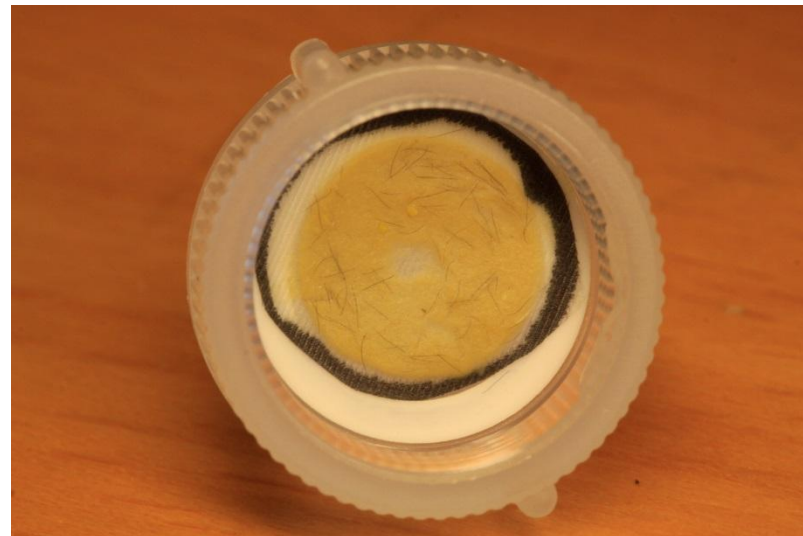
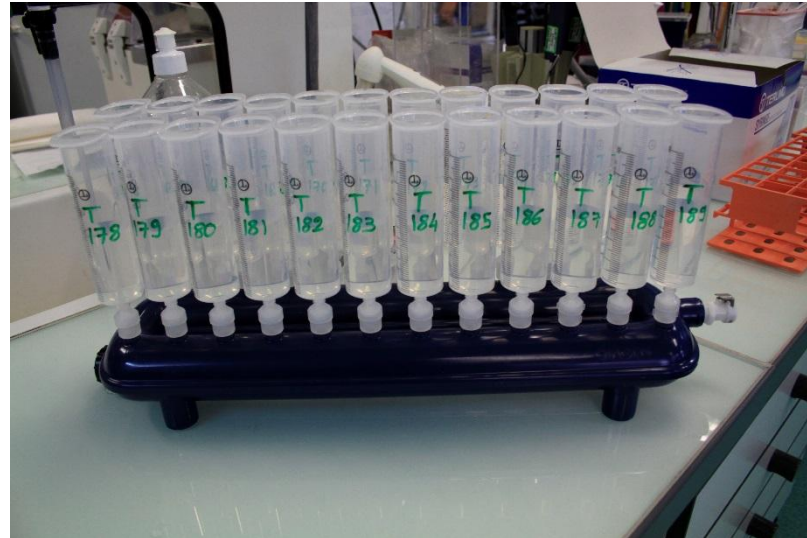
1. Prospections de terrain

2. Analyse par barcoding

210
insectes avec leurs
cortèges de pollens



Récupération du
pollen en
suspension



1. Prospections de terrain

2. Analyse par barcoding

210
insectes avec leurs
cortèges de pollens



Récupération du
pollen en
suspension

Extraction des
ADN



1. Prospections de terrain

2. Analyse par barcoding

210
insectes avec leurs
cortèges de pollens



Récupération du
pollen en
suspension



Extraction des
ADN

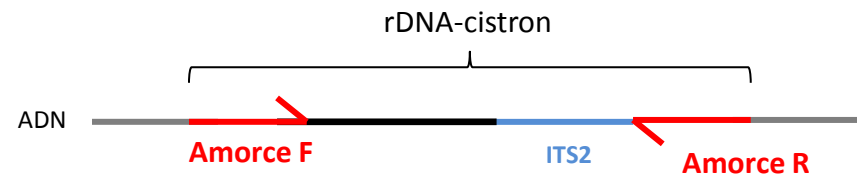


PCR



Amorces :

- Insectes : Fragment COI
- Pollen : rDNA-cistron (ITS2)



1. Prospections de terrain

2. Analyse par barcoding

210
insectes avec leurs
cortèges de pollens



Récupération du
pollen en
suspension



Extraction des
ADN



PCR



Amorces :
- rDNA-cistron (ITS2)
- Fragment COI

Séquençage

Illumina MiSeq
PE 2*300 pb



1. Prospections de terrain

2. Analyse par barcoding

210
insectes avec leurs
cortèges de pollens



© JN Galliot

Récupération du
pollen en
suspension



Extraction des
ADN



PCR



Amorces :
- rDNA-cistron (ITS2)
- Fragment COI

Séquençage



Traitements
bio-informatiques

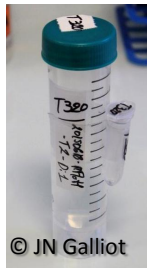


	Base de référence	Source	Nombre références	Nombre de taxons
Pollens	ITS2	ITS2 Database	47 909	32 186
	rDNA-cistron	NCBI	147 895	56 697
Insectes	COI	BoldSystem	519 367	53 069

1. Prospections de terrain

2. Analyse par barcoding

210
insectes avec leurs
cortèges de pollens



Récupération du
pollen en
suspension



Extraction des
ADN

PCR



Amorces :
- rDNA-cistron (ITS2)
- Fragment COI



Séquençage

Traitements
bio-informatiques



Bases de références publiques :
- rDNA-cistron et ITS2
- COI

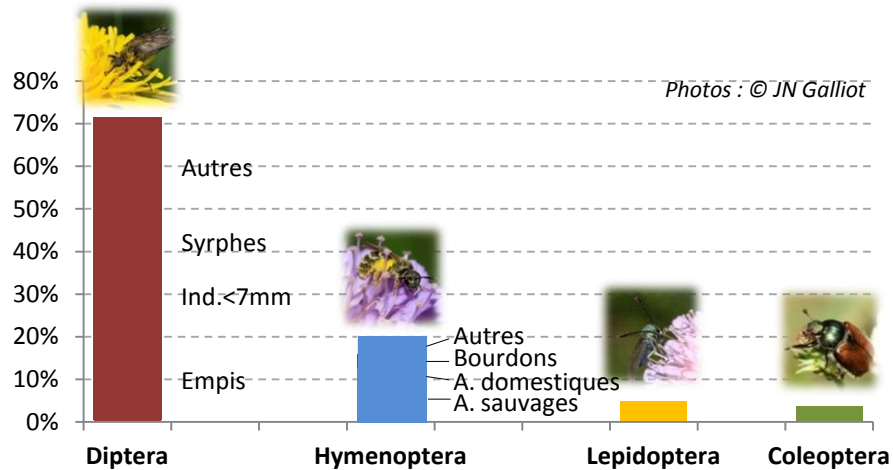
Trame d'analyse finale pour chaque échantillon

1. Observations visuelles

2. Barcoding

- Les insectes butineurs

Répartition des insectes capturés selon l'ordre taxonomique

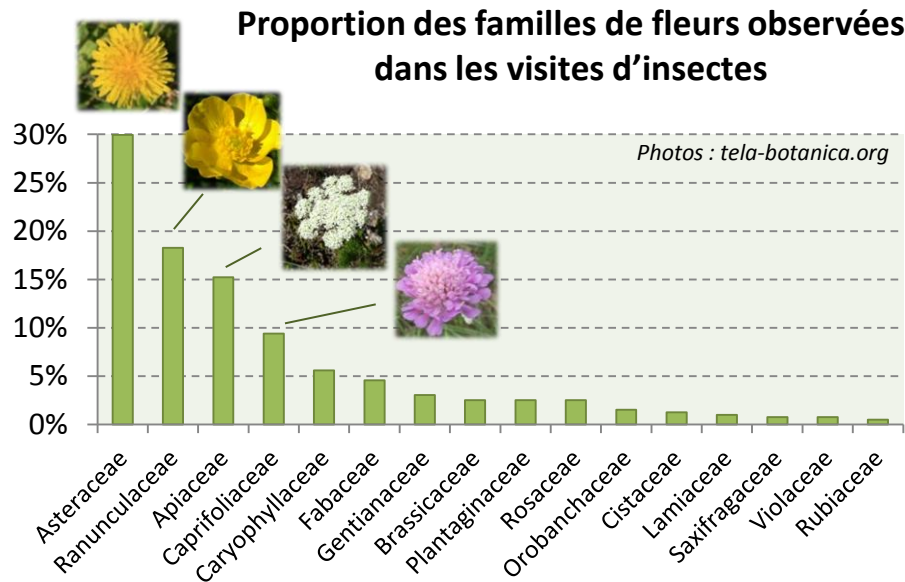


**394 insectes
observés et capturés**

1. Observations visuelles

2. Barcoding

- Les fleurs butinées

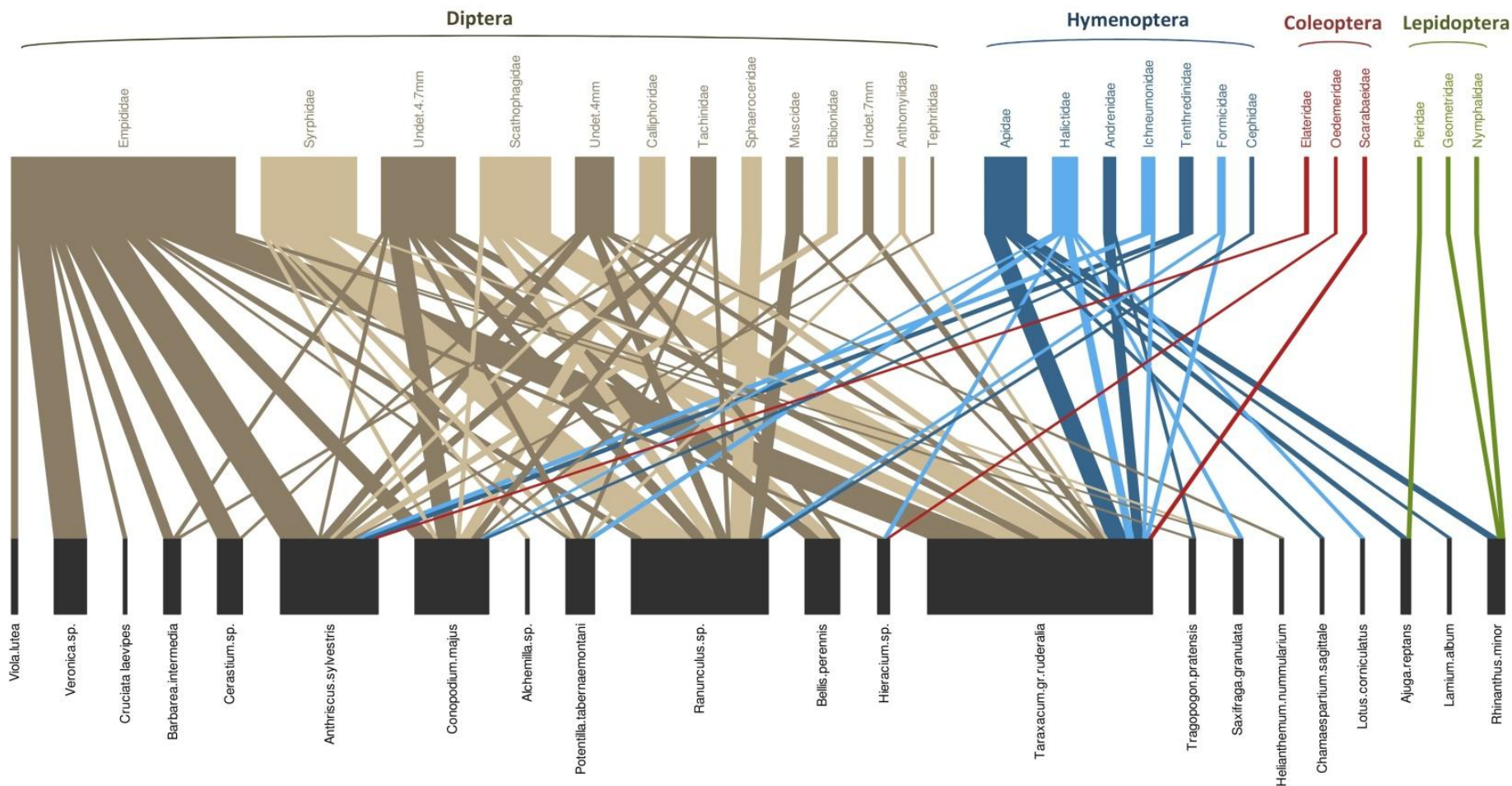


**394 visites sur
16 familles de plantes**

1. Observations visuelles

2. Barcoding

Familles d'insectes butineurs



Genres de fleurs butinés

1. Observations visuelles

2. Barcoding

- Détermination simultanée de l'insecte et des pollens transportés



© JN Galliot

Insecte : *Eucephalodes bucculatus*

(BOLD_GBMIN17992-13; ...)

Pollens transportés :

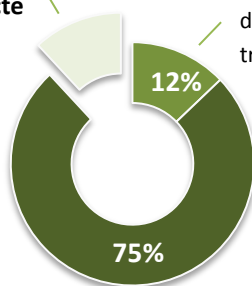
- *Helianthemum* sp (NCBI_gi-299800821; ...)
- *Knautia* sp (NCBI_gi-594615225; ...)
- *Ranunculus* sp (ITS2_156712504; ...)

1. Observations visuelles

2. Barcoding

- Historique des fleurs butinées

13% d'individus avec aucun pollen détecté sur le corps

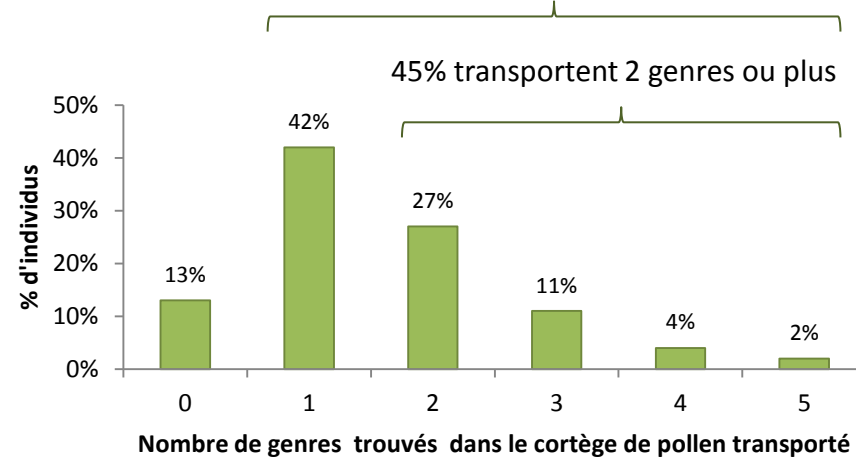


Genre de la fleur visitée absent du cortège de pollens transportés

87% des individus transportent du pollen

Genre de la fleur visitée présent dans le cortège de pollens transportés

87% des individus transportent du pollen

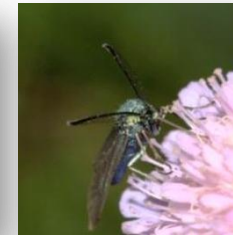
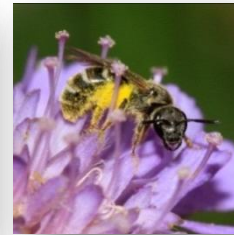
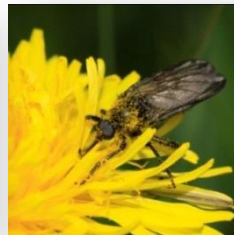
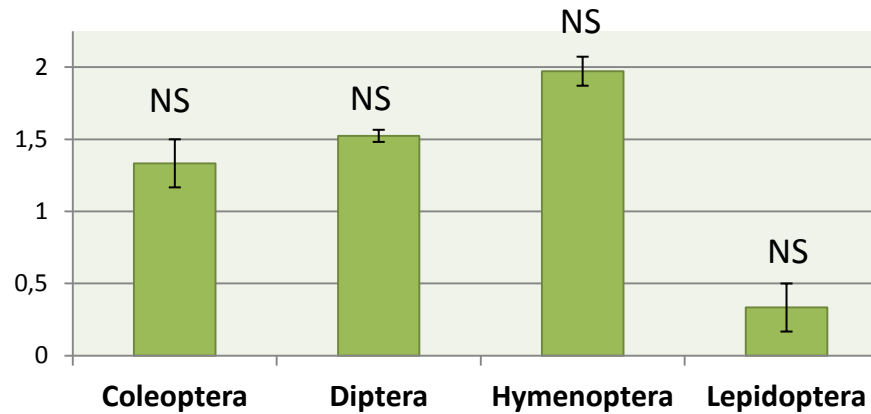


1. Observations visuelles

2. Barcoding

- Historique des fleurs butinées

Nombre moyen de genres transportés par ordre



Le barcoding, un outil pertinent ...

- Méthode qui fonctionne et qui permet d'étudier des processus complexes !
- Traitement efficace des échantillons
- Etude de la biodiversité sans *a priori*

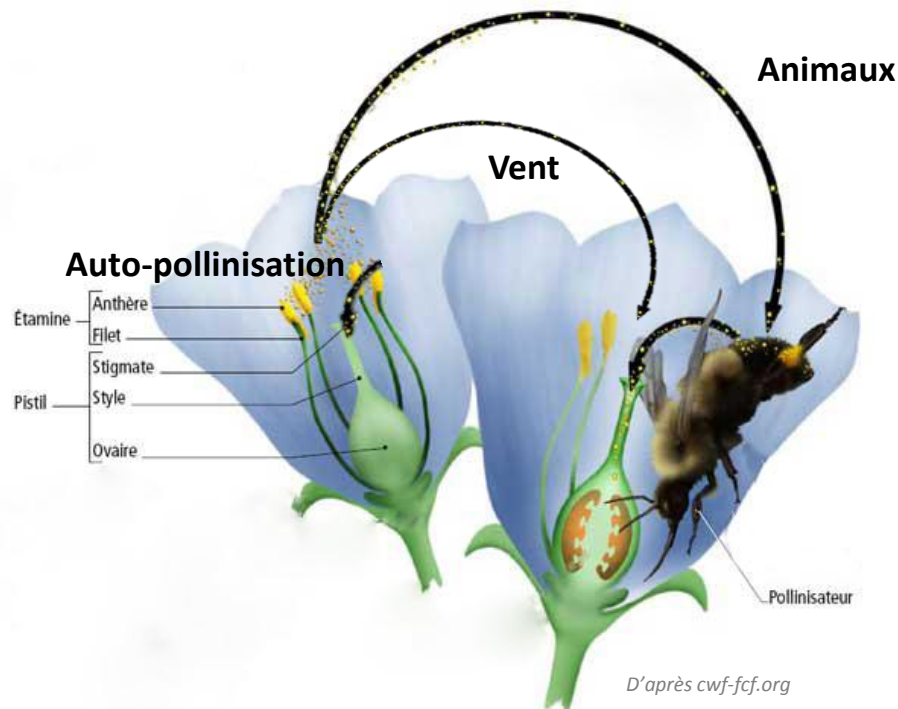


Le barcoding, un outil pertinent ... mais pas encore opérationnel

- Des limites techniques actuelles :
 - Identification des insectes : $\frac{1}{4}$ identifiés
 - ≈> Amorces petit fragment COI & référencement
 - Identification des pollens : 24% des genres manqués
 - ≈> Extraction ADN & bases de données
- La quantification des pollens transportés

Participation à la connaissance de la pollinisation des prairies permanentes

- Insectes butineurs et transporteurs de pollen, mais succès pollinisation ?
- La part de la pollinisation anémophile et de l'autopollinisation ?



Merci pour votre attention