



Impact du travail réduit et des effluents d'élevage sur la biodiversité des champignons mycorhiziens à arbuscules selon une approche métagénomique

Par Benoit Bérubé, Agronome
Candidat à la maîtrise en biologie végétale, Université Laval

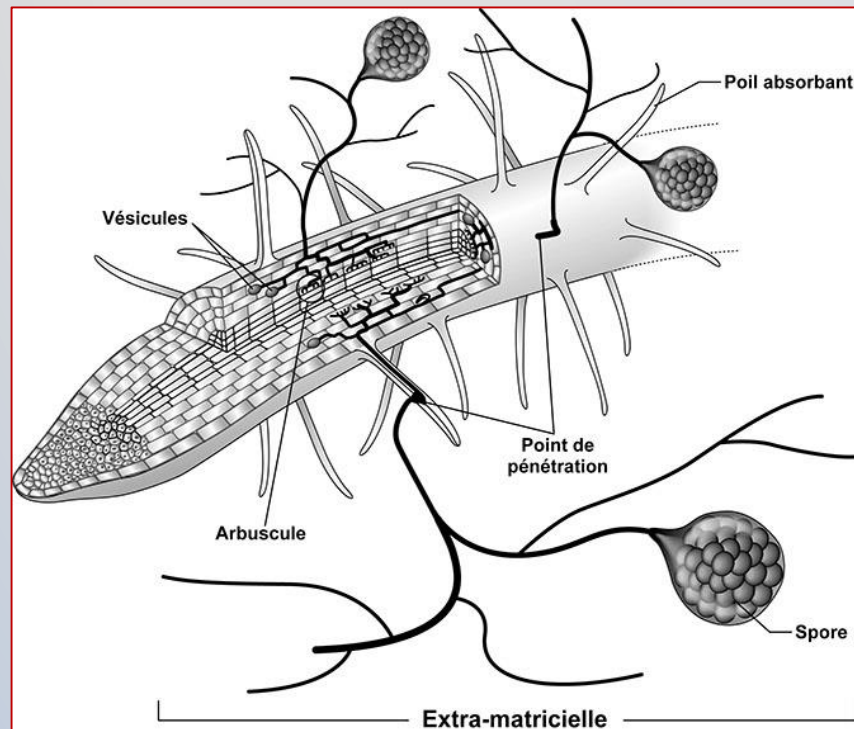
Sous la direction de Mmes Anne Vanasse et Chantal Hamel
M. Martin Chantigny, Collaborateur



ABC des mycorhizes

Association symbiotique entre une plante et un champignon

- Plusieurs types de mycorhizes variant selon le champignon impliqué, l'hôte, les structures créées et les impacts physiologiques sur la plante



© Fortin et al., 2015

Schéma d'une association symbiotique mycorhizienne arbusculaire

Embranchement des Glomeromycota

Quatre ordres

Huit familles

Douze genres

Plus de 200 espèces... décrites (!)

Symbiose avec 250 000 espèces végétales

Apports en agriculture des CMA

Caractéristiques physiques des sols

- Structure
- Porosité

Nutrition des cultures

- Extension du système racinaire
- Accessibilité des nutriments (P)

Résistance aux stress

- Abiotique
- Biotique

Gains envisageables

- Productivité
- Diminution des coûts d'intrants



©Marie-Noëlle Thivierge

Un sujet d'intérêt

Vers une agriculture intégrée, utilisant moins d'intrants de synthèse



Biopierre

Accueil | Publications | Archives | Nous joindre

Expertises Services Équipe Équipements

Recherche...

Articles récents

- Un champignon
- Des PFNL sur le Frontenac
- Le Kamouraski mycotourisme
- Dossier sur les mycorhizes
- L'agriculture du futur

Archives

- novembre 2016
- octobre 2016
- septembre 2016
- juin 2016

La semaine verte

Dossier sur les mycorhizes

Biopierre participe à une émission complète sur les champignons et particulièrement les champignons mycorhiziens en agriculture diffusée à La semaine verte.

Les mycorhizes

Présentée le samedi 23 janvier 2016



Publié le 01 avril 2016 à 21h01 | Mis à jour le 01 avril 2016 à 21h01

Une doctorante de l'UL honorée par Québec Science

Salma Taktek, doctorante de l'Université Laval, s'est démarquée par ses recherches sur ce qui se passe sous la terre entre les plantes et les champignons.

PHOTO THÉÂTRE LE SOLEIL, PASCAL RATHÉ

JEAN-FRANÇOIS CLICHE
Le Soleil

(Québec) C'est une doctorante de l'Université Laval, Salma Taktek, qui a remporté le prix de la

ma PRESSE

Ajouter

PARTAGER

Partager 1.4 K

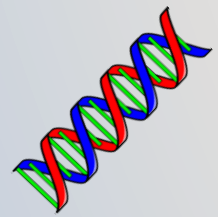


Identification et quantification des CMA



Classique

- Identification et décompte de spores
- Caractérisation des traits morphologiques
- Évaluation de la colonisation des racines



Métagénomique

- Séquences nucléiques présentes
- Unité taxonomique opérationnelle (OTU)

Abondance
Semi-quantitative



Richesse
Nombre d'espèces
Taxons rares



Diversité
Homogénéité
Shannon Équilibré
Simpson Taxons dominants



Facteurs influençant les CMA

Facteurs édaphiques

(Säle et al., 2015)

CMA peuvent changer en fonction de l'acidité du sol - Texture

Utilisation de pesticides

(Castelli et al., 2014)

Fongicides nuisent au développement des CMA

Rotation des cultures

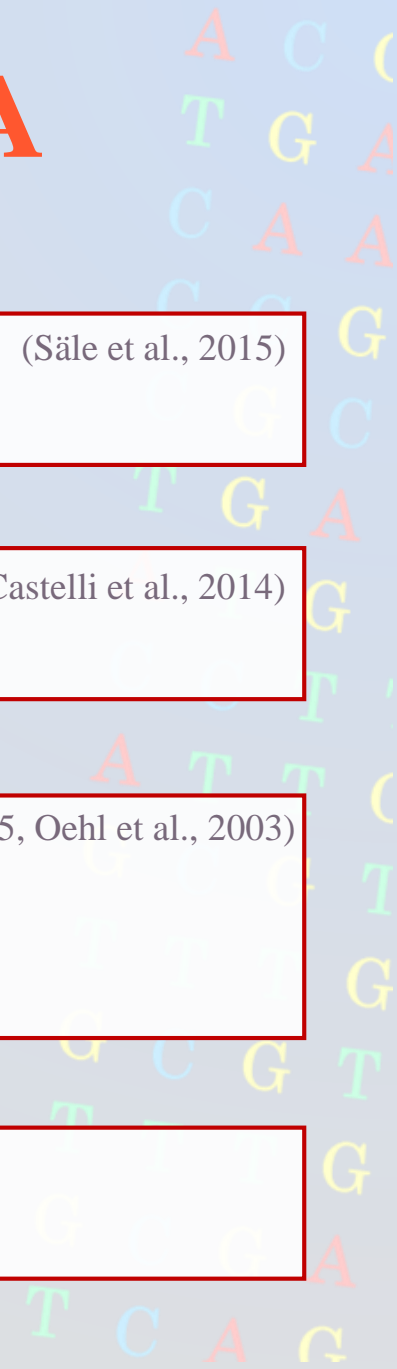
(Fortin et al., 2015, Oehl et al., 2003)

Monoculture diminue la richesse des CMA

CMA spécifiques à certaines cultures

Autres pratiques culturales

Travail de sol – Fertilisation – Gestion des résidus



Travail de sol

- Labour (L) vs. Travail réduit (Tr)

Abondance
Richesse
Diversité

↑ par le Tr



Labour

- Perturbation mécanique du sol
- Libération de la M.O. , cela favorise le développement des bactéries

Travail réduit

- Favorise la propagation des hyphes
- Amène une stratification de la fertilité qui ne semble pas affecter les CMA



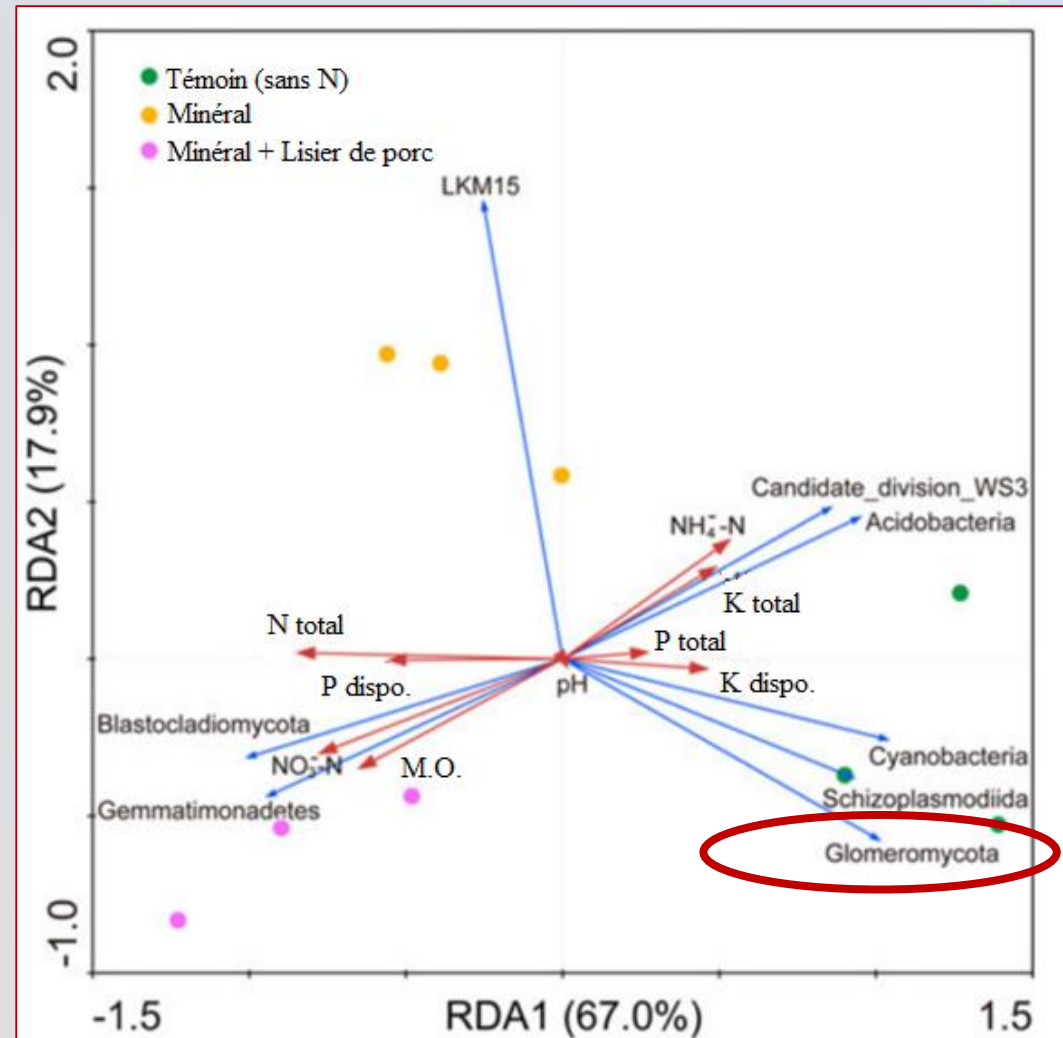
Fertilisation

- L'établissement de la symbiose mycorhizienne est affectée négativement par une trop grande fertilité du sol

Abondance
Richesse
Diversité

↑ si effluents

- Les effluents d'élevage augmentent l'activité microbologique du sol par l'addition de M.O.



(Adapté de Chen et al., 2016)

Analyse de la redondance (RDA) montrant les variations entre les traitements, les caractéristiques de sol et les OTUs d'intérêt

(Avio et al., 2013, Fortin et al., 2015, 2015, Pellegrino et al., 2015, Sâle et al., 2015, Sun et al., 2015)



Effluents d'élevage

Caractérisation des effluents d'élevage selon leur niveau d'azote et de carbone

Engrais organiques	C / N	N _{total} (kg/t)	N-NH ₄ / N _{total} (%)
Lisier de porc	3,4	3,5	69
Lisier bovin laitier	10	2,6	54
Fumier de poulet	11	27,5	38

(Adapté de Gagné et al., 2010)

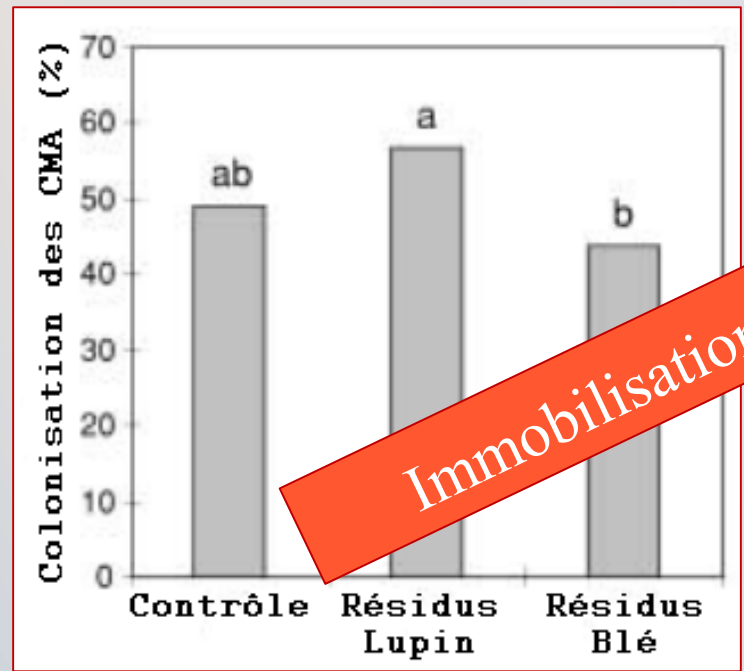
- Corrélation entre les variations du sol en N-NO₃⁻ / M.O. et l'abondance des communautés bactériennes et fongiques (Chen et al., 2016)





Gestion des résidus

- Les résidus favorisent la richesse et la diversité des communautés CMA



Immobilisation de l'N avec un apport en C

(Adapté de Borie a

- L'impact de l'impact peut varier en fonction du type de résidus
- Impact moins prononcé des résidus par rapport à la fertilisation

Relations entre les résidus de cultures et le pourcentage de colonisation des CMA

Introduction

Revue de littérature

Objectifs & hypothèses



Problématique et objectifs



Travail réduit – Fertilisation à base d’effluents d’élevage – Conservation des résidus

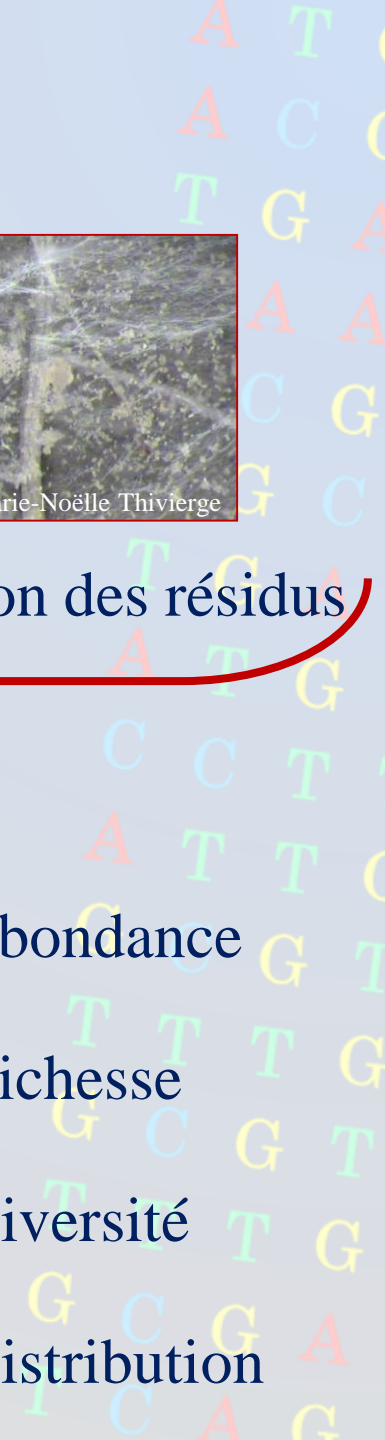
Évaluer les répercussions sur les :

CMA

+ les interactions possibles!

Selon leur :

- 1. Abondance
- 2. Richesse
- 3. Diversité
- 4. Distribution



Introduction

Revue de
littérature

Objectifs &
hypothèses

1. Travail réduit de
sol (Tr)

Augmentera l'abondance, la richesse et la
diversité des CMA

2. Effluents d'élevage
(Ee)

Auront des effets différents sur l'abondance,
la richesse et la diversité des CMA

3. Conservation des
résidus (Cr)

Favorisera l'abondance, la richesse et la
diversité des CMA

4. Distribution des
OTUs de CMA

Sera influencée selon les OTUs par le Tr, les
Ee et la Cr

Hypothèses

Introduction

Revue de littérature

Objectifs & hypothèses

Méthodes

Dispositif expérimental

- Saint-Augustin-de-Desmaures, Québec
- Deux sites
- Loam sableux et Argile limoneuse



- Depuis 2008
- Rotation Blé – Maïs – Soya
- Données **Soya 2015** + Blé 2016

Introduction

Revue de littérature

Objectifs & hypothèses

Méthodes

Dispositif expérimental

- Deux expériences en tiroirs subdivisés (split-split-plot) de 3 blocs
- Unité expérimentale : Parcelle de 5 par 7 mètres
- Factorielle à 3 facteurs (2 x 5 x 2)
 - Parcelles principales : Travail de sols (Labour ou travail réduit)
 - Sous-parcelles : Fertilisation (Témoin, minéral, lisier de porc, lisier de bovin ou fumier de poulet)
 - Sous-sous-parcelle : Gestion des résidus (Enlevés ou retournés)



	Travail réduit		Témoin		Lisier porc
	Labour		Minéral		Lisier bovin
	Fumier poulet	e	Résidus enlevés		
G	Parcelle de garde	r	Résidus retournés		

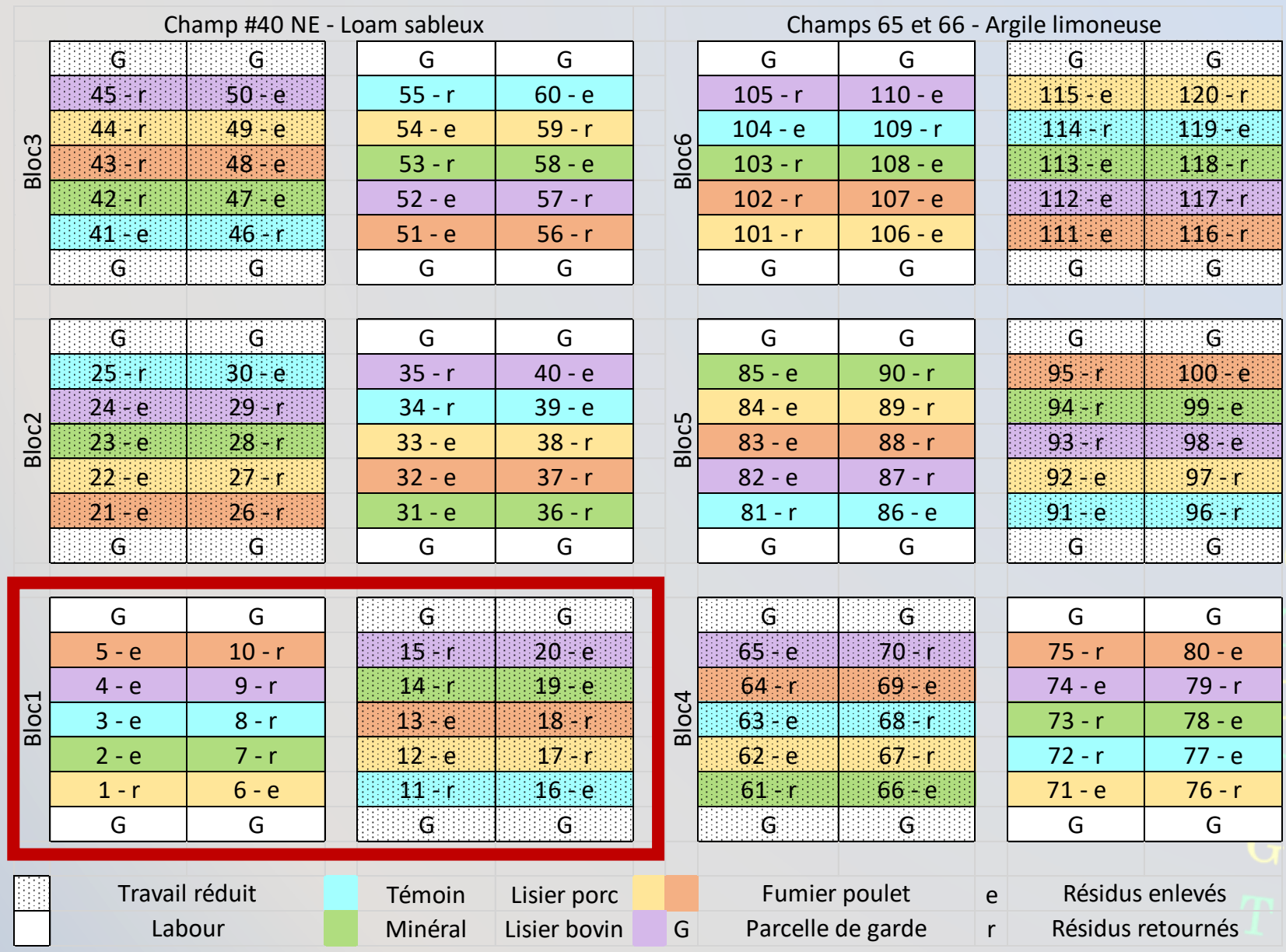
Introduction

Revue de littérature

Objectifs & hypothèses

Méthodes

Dispositif expérimental



Méthodologie

■ Mesures effectuées

- Biomasse microbienne (C et N)



- Caractérisation des sols (Mehlich-3)
- Abondance et identification des OTUs
 - Estimateur de richesse
 - Indices de diversité (Simpson + Shannon)

■ Échantillonnage des sols

- Suite à la récolte
- Zone 0 – 10 cm
- Composites (3 sous-échantillons)



Introduction

Revue de littérature

Objectifs & hypothèses

Méthodes

Méthodologie



Extraction d'ADN – PowerSoil® DNA Isolation Kit

- Manipulations menées en duplicats pour chaque parcelle
- 120 extractions à des concentrations variables

Normalisation des échantillons

Séquençage à haut débit

- Envoi à Génome Québec à McGill
- Technologie Illumina MiSeq
- Millions de séquences nucléiques

Assemblage des séquences

- Utilisation du programme USearch
- Nettoyage et tri des séquences

(Edgar, 2010, MO BIO Laboratories, Inc., 2015)

Alignement des séquences



- Utilisation BLASTn (Basic local alignment search tool)

Descriptions

Legend for links to other resources: [U](#) UniGene [E](#) GEO [G](#) Gene [S](#) Structure [M](#) Map Viewer

Sequences producing significant alignments:
(Click headers to sort columns)

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident	Links
NM_009810.2	Mus musculus caspase 3 (Casp3), mRNA	2645	2645	100%	0.0	100%	U E G
U49929.1	Mus musculus ICE-like cysteine protease (Lice) mRNA, complete cds	2639	2639	100%	0.0	99%	U E G
BC038825.1	Mus musculus caspase 3, mRNA (cDNA clone MGC:46907 IMAGE:4482)	2630	2630	100%	0.0	99%	U E G
AK146226.1	Mus musculus TIB-55 BB88 cDNA, RIKEN full-length enriched library, cl	2605	2605	99%	0.0	99%	U G
U19522.1	Mus musculus cysteine protease CPP32 (cpp32) mRNA, complete cds	2572	2572	97%	0.0	99%	U E G
U63720.1	Mus musculus CPP32 apoptotic protease mRNA, partial cds	2177	2177	84%	0.0	99%	U E G
Y13086.1	M.musculus mRNA for caspase-3	2138	2325	81%	0.0	99%	U E G
AK080651.1	Mus musculus 10 days neonate cortex cDNA, RIKEN full-length enriched	2035	2035	76%	0.0	100%	U E G
NM_012922.2	Rattus norvegicus caspase 3 (Casp3), mRNA >gb BC081854.1 Rattus	1573	1573	99%	0.0	82%	U E G
D86352.1	Mus musculus mRNA for CPP32, complete cds	1553	1553	59%	0.0	99%	U E G
AC119267.8	Mus musculus chromosome 8, clone RP24-322H19, complete sequence	1443	2676	100%	0.0	100%	
U54803.1	Mus musculus cysteine protease (Lice) gene, exons 3-7, and complete	1438	2457	92%	0.0	100%	E G
U27463.1	Mesocricetus auratus CPP-32 (CPP-32) mRNA, complete cds	1429	1429	96%	0.0	82%	
U49930.1	Rattus norvegicus ICE-like cysteine protease (Lice) mRNA, complete cd	1341	1341	79%	0.0	83%	U E G
U84410.1	Rattus norvegicus interleukin-1beta-converting enzyme-related protease	1222	1222	67%	0.0	85%	U E G
AY965039.1	Mus musculus Casp3 gene, partial sequence	1157	1157	43%	0.0	99%	
U58656.1	Rattus norvegicus cysteine protease p32-beta (CPP32-beta) mRNA, pa	1108	1108	58%	0.0	88%	U
FJ940732.1	Cricetulus griseus caspase 3 (CASP 3) mRNA, complete cds	1056	1056	56%	0.0	88%	
XR_009516.1	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Caspase-3 precursor (CASP-	1038	1038	56%	0.0	87%	G
XR_007068.1	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Caspase-3 precursor (CASP-	1038	1038	56%	0.0	87%	G
AK049043.1	Mus musculus 0 day neonate cerebellum cDNA, RIKEN full-length enrich	984	984	37%	0.0	100%	U G
NM_001082117.1	Oryctolagus cuniculus caspase 3, apoptosis-related cysteine peptidase	931	931	57%	0.0	84%	U G
XM_001083044.1	PREDICTED: Macaca mulatta similar to caspase 3 preproprotein, trans	915	915	62%	0.0	82%	U G
XM_001083160.1	PREDICTED: Macaca mulatta similar to caspase 3 preproprotein, trans	911	911	61%	0.0	82%	U G

Exemple de résultat possible avec BLASTn

Introduction

Revue de littérature

Objectifs & hypothèses

Méthodes

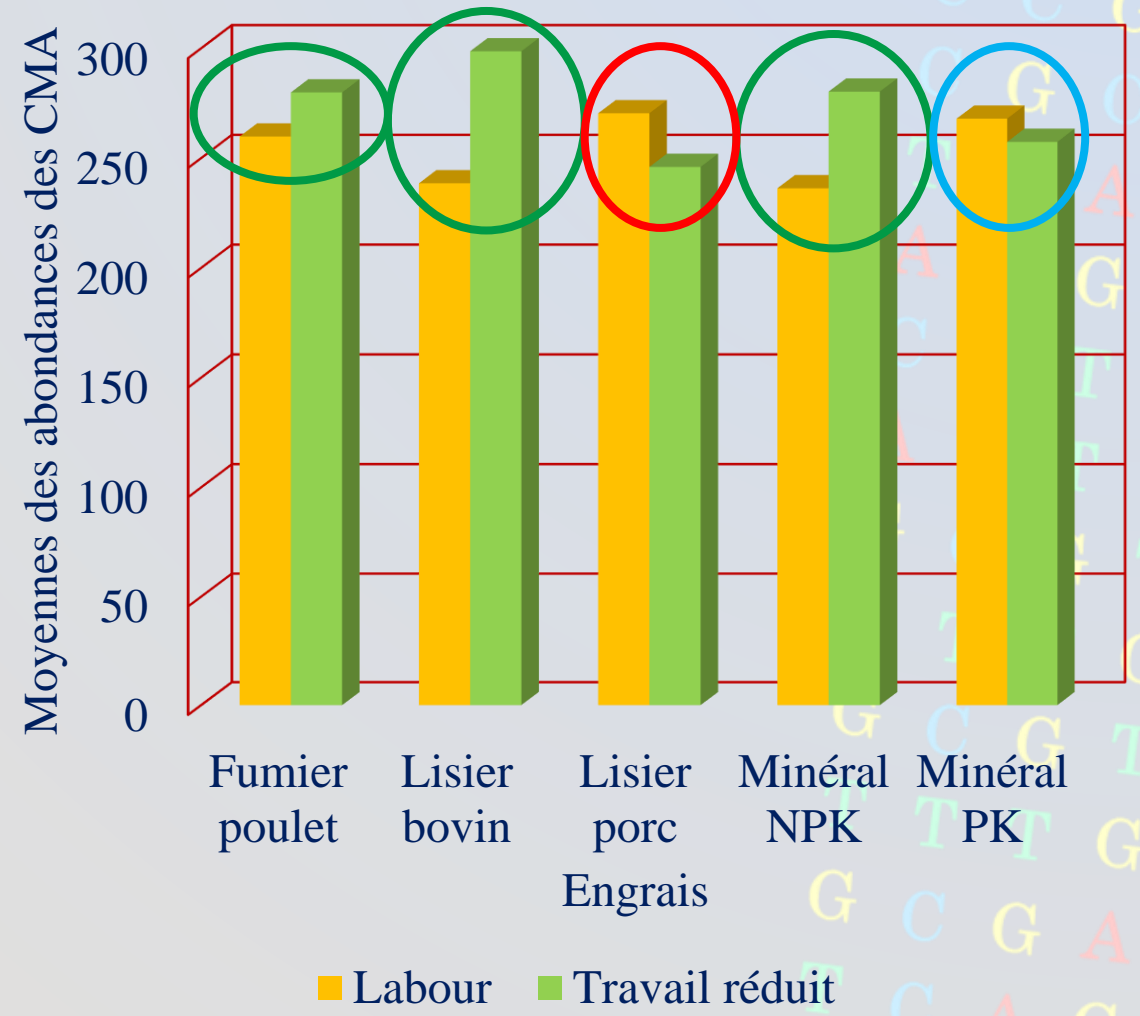
Résultats préliminaires

Abondance des CMA

Table d'ANOVA pour l'abondance des CMA selon le type de sol (Loam sableux [LS] et Argile limoneuse [AL]) pour 2015. ANOVA à $\alpha = 10\%$.

Facteurs	Abondance	
	LS	AL
Type de sol		
Travail (T)	0.2408	0.9087
Engrais (E)	0.9812	0.1944
T * E	0.0691	0.4694
Résidus (R)	0.9229	0.4723
T * R	0.5927	0.7688
E * R	0.3290	0.4171
T * E * R	0.4647	0.2144

Abondances des OTUs de CMA pour Travail * Engrais dans le LS pour 2015



Introduction

Revue de littérature

Objectifs & hypothèses

Méthodes

Résultats préliminaires

Richesse des CMA

Table d'ANOVA pour la richesse des CMA selon le type de sol (Loam sableux [LS] et Argile limoneuse [AL]) pour 2015. ANOVA à $\alpha = 10\%$.

Facteurs	Richesse	
	LS	AL
Type de sol		
Travail (T)	0.3498	0.9189
Engrais (E)	0.4964	0.2608
T * E	0.9041	0.8641
Résidus (R)	0.7432	0.1813
T * R	0.5687	0.2901
E * R	0.8164	0.2331
T * E * R	0.3063	0.3969

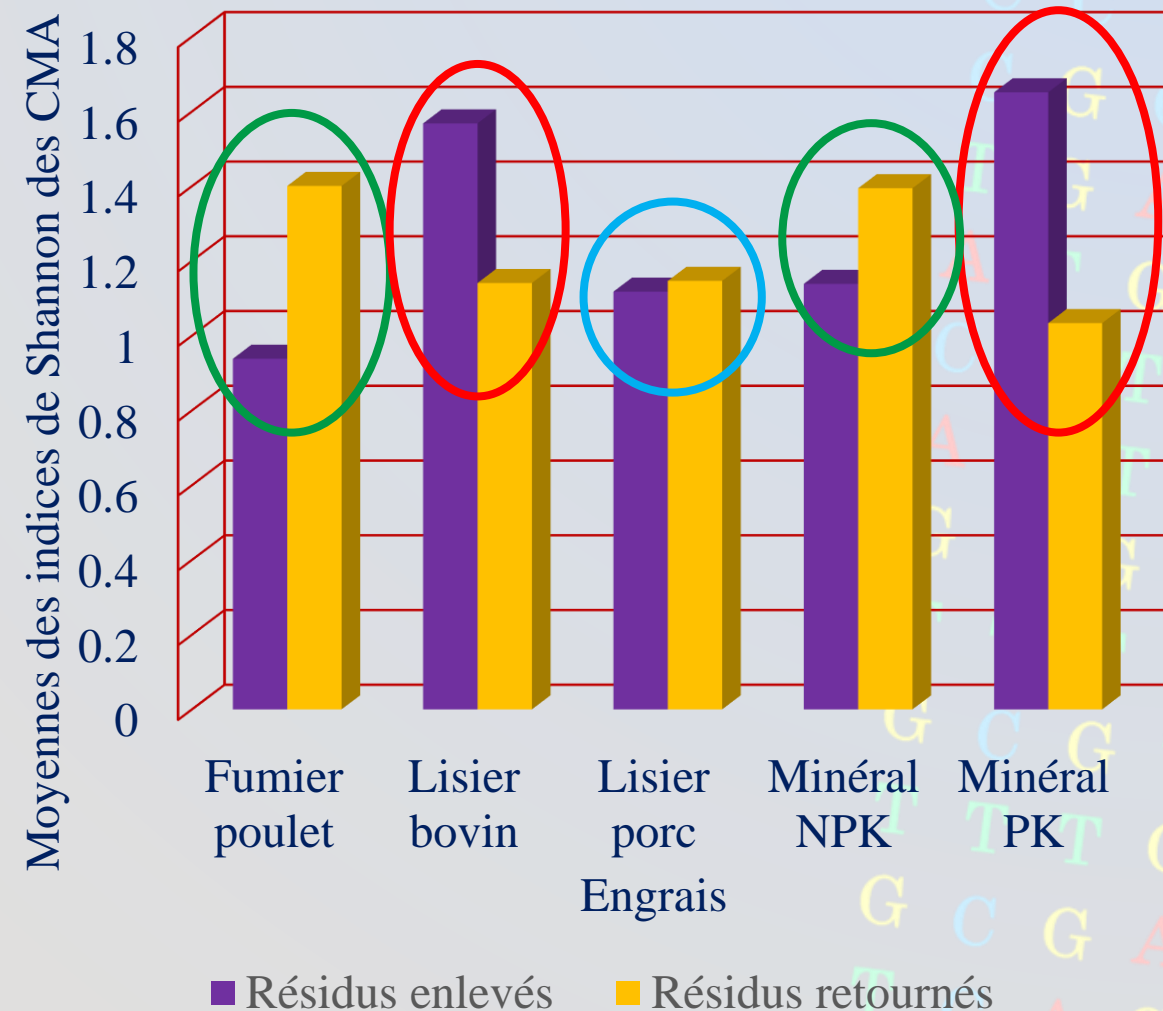
- Aucun traitement significatif en fonction de la richesse des CMA

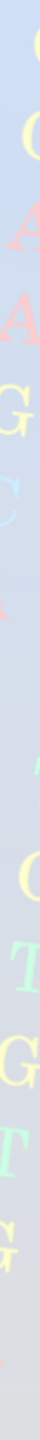
Indice de diversité Shannon

Table d'ANOVA pour la diversité Shannon des CMA selon le type de sol (Loam sableux [LS] et Argile limoneuse [AL]) pour 2015.
ANOVA à $\alpha = 10\%$.

Facteurs	Shannon	
	LS	AL
Type de sol		
Travail (T)	0.2593	0.7235
Engrais (E)	0.4199	0.7989
T * E	0.6072	0.3291
Résidus (R)	0.5964	0.7118
T * R	0.5149	0.3371
E * R	0.5317	0.0978
T * E * R	0.2311	0.4293

Diversité de Shannon des OTUs de CMA pour Engrais * Résidus dans l'AL pour 2015





Introduction

Indice de diversité de Simpson

Revue de littérature

Table d'ANOVA pour la diversité Simpson des CMA selon le type de sol (Loam sableux [LS] et Argile limoneuse [AL]) pour 2015. ANOVA à $\alpha = 10\%$.

Objectifs & hypothèses

Facteurs	Simpson	
	LS	AL
Type de sol		
Travail (T)	0.0693	0.6031
Engrais (E)	0.4066	0.7181
T * E	0.5149	0.3856
Résidus (R)	0.4983	0.6058
T * R	0.3089	0.4913
E * R	0.5552	0.0840
T * E * R	0.1486	0.4392

Méthodes

Selon le Travail pour LS
Plus grande diversité de Simpson en Travail réduit comparativement au Labour

Résultats préliminaires

*Selon Engrais * Résidus pour AL*
Même tendances que la diversité de Shannon selon Engrais * Travail pour AL

Introduction

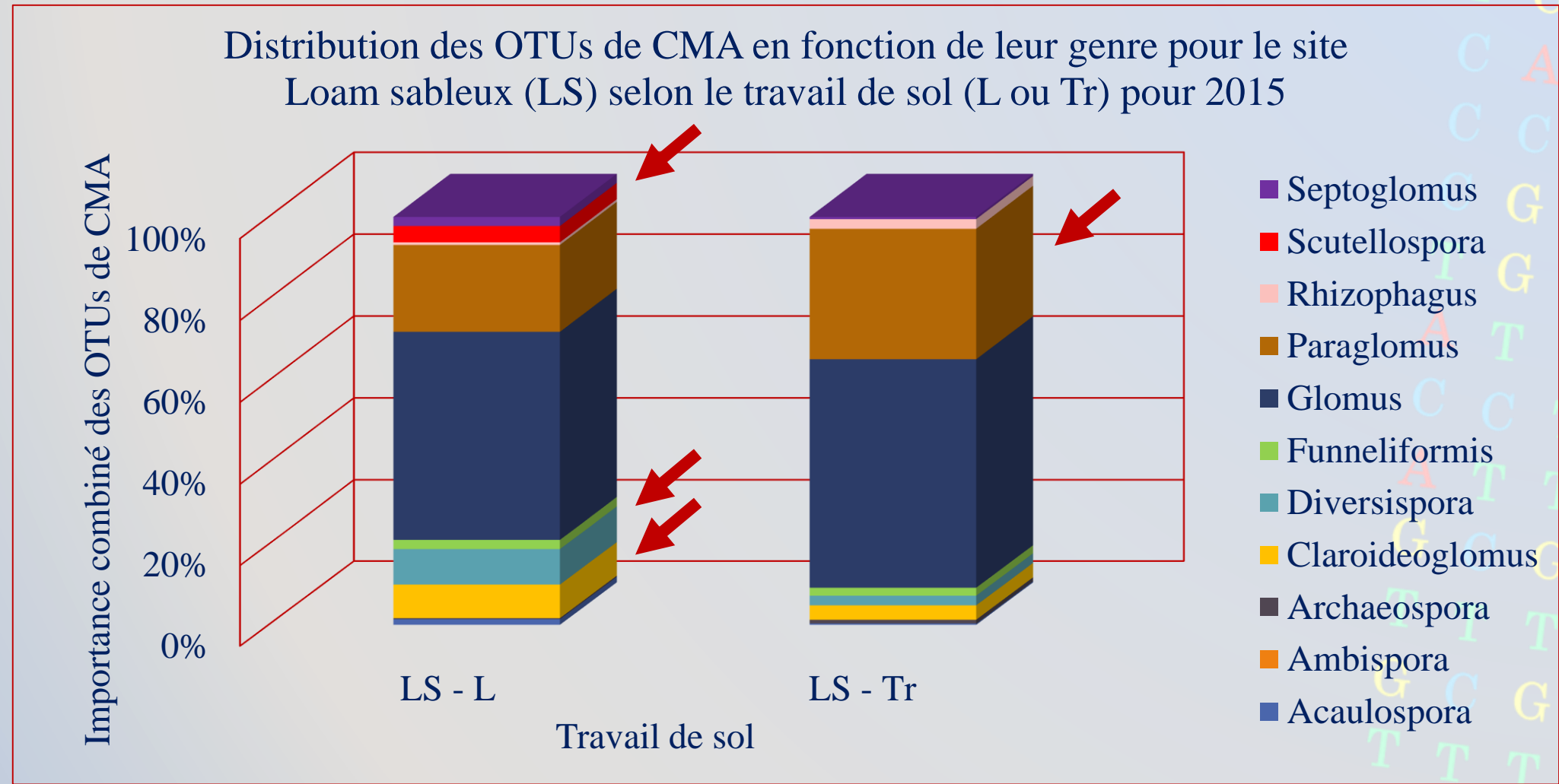
Revue de littérature

Objectifs & hypothèses

Méthodes

Résultats préliminaires

Distribution des OTUs dans LS



- Permanova significative à 0.001 pour le travail de sol

Introduction

Revue de littérature

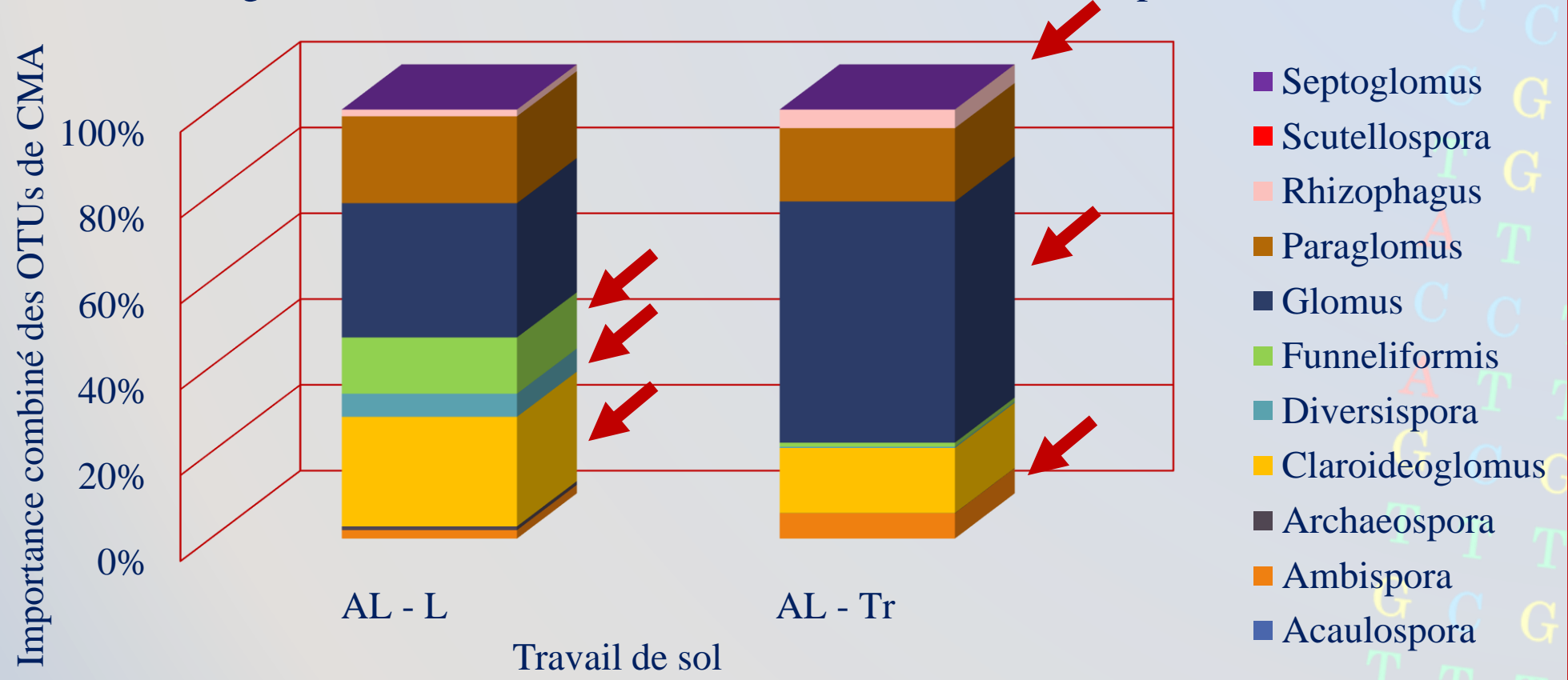
Objectifs & hypothèses

Méthodes

Résultats préliminaires

Distribution des OTUs dans AL

Distribution des OTUs de CMA en fonction de leur genre pour le site Argile limoneuse (AL) selon le travail de sol (L ou Tr) pour 2015



- Permanova significative à 0.001 pour le travail de sol

Travaux en cours

Introduction

Revue de
littérature

Objectifs &
hypothèses

Méthodes

Résultats
préliminaires

- Compléter les analyses de sol afin d'étudier les variations des groupes taxonomiques en fonction de la fertilité du sol (RDA)
- Lier les données agronomiques à la variabilité taxonomique
- Effectuer le traitement bioinformatique et statistique pour les données Blé 2016 (analyses combinées en perspective!)
- Préparatifs en cours pour la saison à venir, Maïs 2017

Une vision plus large du microbiome du sol

Bactéries et champignons totaux

Les résultats en bref, pour l'instant!

Abondance

- Tendence Travail * Engrais pour LS

Richesse

- Rien de significatif

Distribution des OTUs

- Travail sign. *** pour LS et AL
- Favorise les genres :

Diversité

- Tendence Travail avec Simpson pour LS
- Tendence Engrais * Résidus avec Shannon et Simpson pour AL

LS	Labour	AL	Labour
	Claroideoglomus + Diversispora + Scutellospora		Claroideoglomus + Diversispora + Funneliformis
	Travail réduit		Travail réduit
	Paraglomus		Glomus + Ambispora + Rhizophagus

Texture de sol

Tendances différentes selon le type de sol!

A T
A C
T G
C A
C C
G C
G A
T G
C T
A T
G T
G C
T G
G A
T C

Perspectives du projet



*Pas si simple d'évaluer les impact des pratiques culturales sur les CMA,
mais c'est essentiel pour mieux comprendre le microbiome du sol, ses
répercussions sur les cultures et tendre vers une agriculture plus intégrée !*

Introduction

Revue de littérature

Objectifs & hypothèses

Méthodes

Résultats préliminaires

Conclusion

Remerciements

Introduction

Revue de
littérature

Objectifs &
hypothèses

Méthodes

Résultats
attendus

Conclusion

- Directrice et co-directrice de recherche
Anne Vanasse et Chantal Hamel
- Collaborateur
 - Martin Chantigny
- Contributrice
 - Isabelle Royer
- Ainsi que leur équipe, spécialement:
 - Marie-Ève Giroux
 - Annie Bregard
 - Réjean Desgagnés
 - David Gagné
 - Johanne Trembley
 - Annie Robichaud
 - Gabriel Lévesque
 - Catherine Pinsonneault



Agriculture et
Agroalimentaire Canada

Agriculture and
Agri-Food Canada

A T
A C
T G
A
G
C
A
G
T
A
C
A
G

Questions ?

Introduction

Revue de littérature

Objectifs & hypothèses

Méthodes

Résultats attendus

Conclusion



Références

Introduction

Aßhauer, K. P., Wemheuer, B., Daniel, R., & Meinicke, P. (2015). Tax4Fun: predicting functional profiles from metagenomic 16S rRNA data. *Bioinformatics*, 31(17), 2882-2884.

Revue de littérature

Avio, L., Castaldini, M., Fabiani, A., Bedini, S., Sbrana, C., Turrini, A., & Giovannetti, M. (2013). Impact of nitrogen fertilization and soil tillage on arbuscular mycorrhizal fungal communities in a Mediterranean agroecosystem. *Soil Biology and Biochemistry*, 67, 285-294. doi:<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.09.005>

Objectifs & hypothèses

Balestrini, R., Lumini, E., Borriello, R., & Bianciotto, V. (2015). Chapter 11 - Plant-Soil Biota Interactions A2 - Paul, Eldor A *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry (Fourth Edition)* (pp. 311-338). Boston: Academic Press.

Borie, F., Redel, Y., Rubio, R., Rouanet, J., & Barea, J. (2002). Interactions between crop residues application and mycorrhizal developments and some soil-root interface properties and mineral acquisition by plants in an acidic soil. *Biology and Fertility of Soils*, 36(2), 151-160.

Borriello, R., Lumini, E., Girlanda, M., Bonfante, P., & Bianciotto, V. (2012). Effects of different management practices on arbuscular mycorrhizal fungal diversity in maize fields by a molecular approach. *Biology and Fertility of Soils*, 48(8), 911-922. doi:10.1007/s00374-012-0683-4

Méthodes

Bottomley, P. J., & Myrold, D. D. (2015). Chapter 15 - Biological N Inputs A2 - Paul, Eldor A *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry (Fourth Edition)* (pp. 447-470). Boston: Academic Press.

Castelli, M., Urcoviche, R. C., Gimenes, R. M. T., & Alberton, O. (2014). Arbuscular mycorrhizal fungi diversity in maize under different soil managements and seed treatment with fungicide. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 12(2), 486-491.

Résultats attendus

Chávez-Romero, Y., Navarro-Noya, Y. E., Reynoso-Martínez, S. C., Sarria-Guzmán, Y., Govaerts, B., Verhulst, N., . . . Luna-Guido, M. (2016). 16S metagenomics reveals changes in the soil bacterial community driven by soil organic C, N-fertilizer and tillage-crop residue management. *Soil and Tillage Research*, 159, 1-8. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.still.2016.01.007>

Conclusion

Chen, C., Zhang, J., Lu, M., Qin, C., Chen, Y., Yang, L., . . . Shen, Q. (2016). Microbial communities of an arable soil treated for 8 years with organic and inorganic fertilizers. *Biology and Fertility of Soils*, 52(4), 455-467.

Edgar, R. C. (2010). Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics*, 26(19), 2460-2461.

Références

Introduction

Fortin, J. A., Piché, Y., & Plenchette, C. (2015). *Les Mycorhizes: L'essor de la Nouvelle Révolution Verte*: Editions MultiMondes.

Gagné, G., & Parent, L.-É. (2010). *Guide de référence en fertilisation (2e éd ed.)*. Sainte-Foy: Centre de référence en agriculture et agroalimentaire du Québec.

Gagnon, G., Lecavalier, C., Soulard, F., St. Lawrence, J., Tait, M., & Wang, J. (2014). *L'activité humaine et l'environnement - L'agriculture au Canada*. Retrieved from <http://www.statcan.gc.ca/pub/16-201-x/16-201-x2014000-fra.pdf>

Morris, E. K., Caruso, T., Buscot, F., Fischer, M., Hancock, C., Maier, T. S., . . . Rillig, M. C. (2014). Choosing and using diversity indices: insights for ecological applications from the German Biodiversity Exploratories. *Ecology and Evolution*, 4(18), 3514-3524. doi:10.1002/ece3.1155

Morris, S. J., & Blackwood, C. B. (2015). Chapter 10 - The ecology of the soil biota and their function A2 - Paul, Eldor A *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry (Fourth Edition)* (pp. 273-309). Boston: Academic Press.

Oehl, F., Sieverding, E., Ineichen, K., Mäder, P., Boller, T., & Wiemken, A. (2003). Impact of land use intensity on the species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems of Central Europe. *Applied and environmental microbiology*, 69(5), 2816-2824.

Pellegrino, E., Öpik, M., Bonari, E., & Ercoli, L. (2015). Responses of wheat to arbuscular mycorrhizal fungi: A meta-analysis of field studies from 1975 to 2013. *Soil Biology and Biochemistry*, 84, 210-217. doi:<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.02.020>

Robertson, G. P., & Groffman, P. M. (2015). Chapter 14 - Nitrogen Transformations A2 - Paul, Eldor A *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry (Fourth Edition)* (pp. 421-446). Boston: Academic Press.

Säle, V., Aguilera, P., Laczko, E., Mäder, P., Berner, A., Zihlmann, U., . . . Oehl, F. (2015). Impact of conservation tillage and organic farming on the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biology and Biochemistry*, 84, 38-52. doi:<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.02.005>

Smith, J. L., Collins, H. P., Crump, A. R., & Bailey, V. L. (2015). Chapter 18 - Management of Soil Biota and Their Processes A2 - Paul, Eldor A *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry (Fourth Edition)* (pp. 539-572). Boston: Academic Press.

Revue de littérature

Objectifs & hypothèses

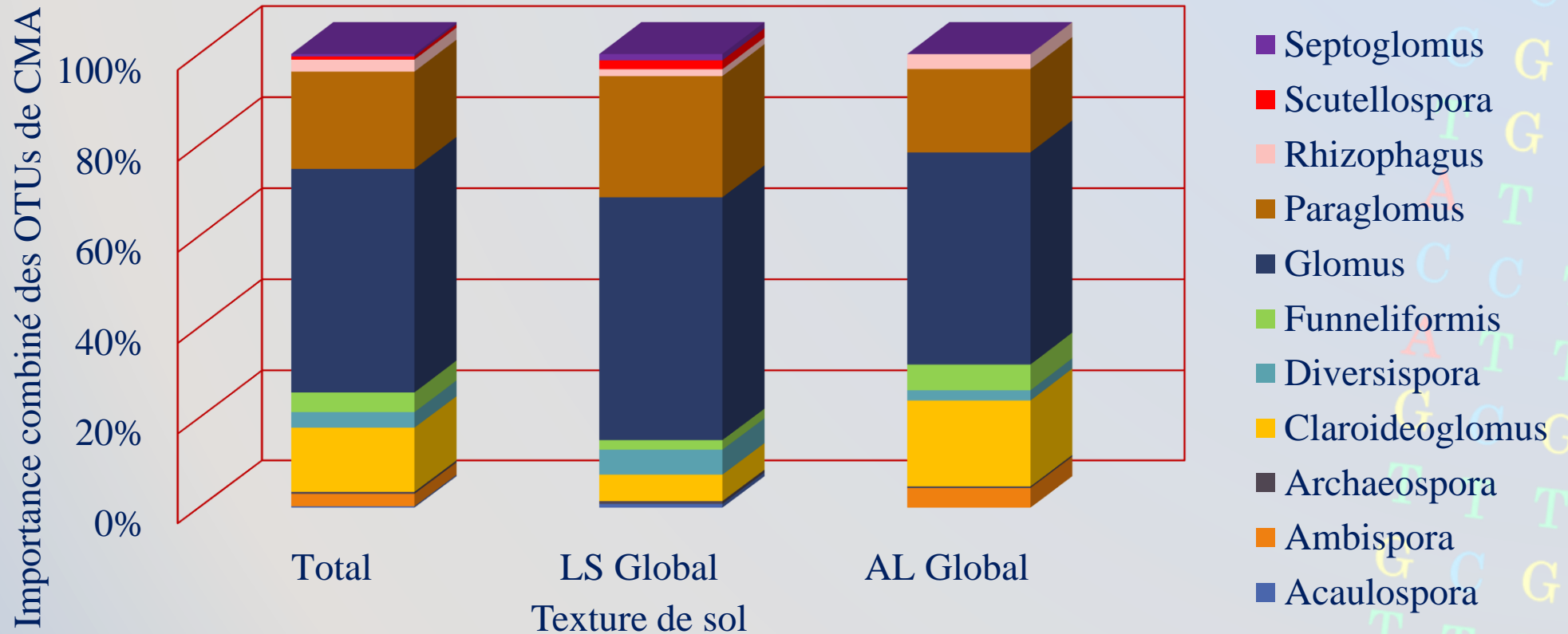
Méthodes

Résultats attendus

Conclusion

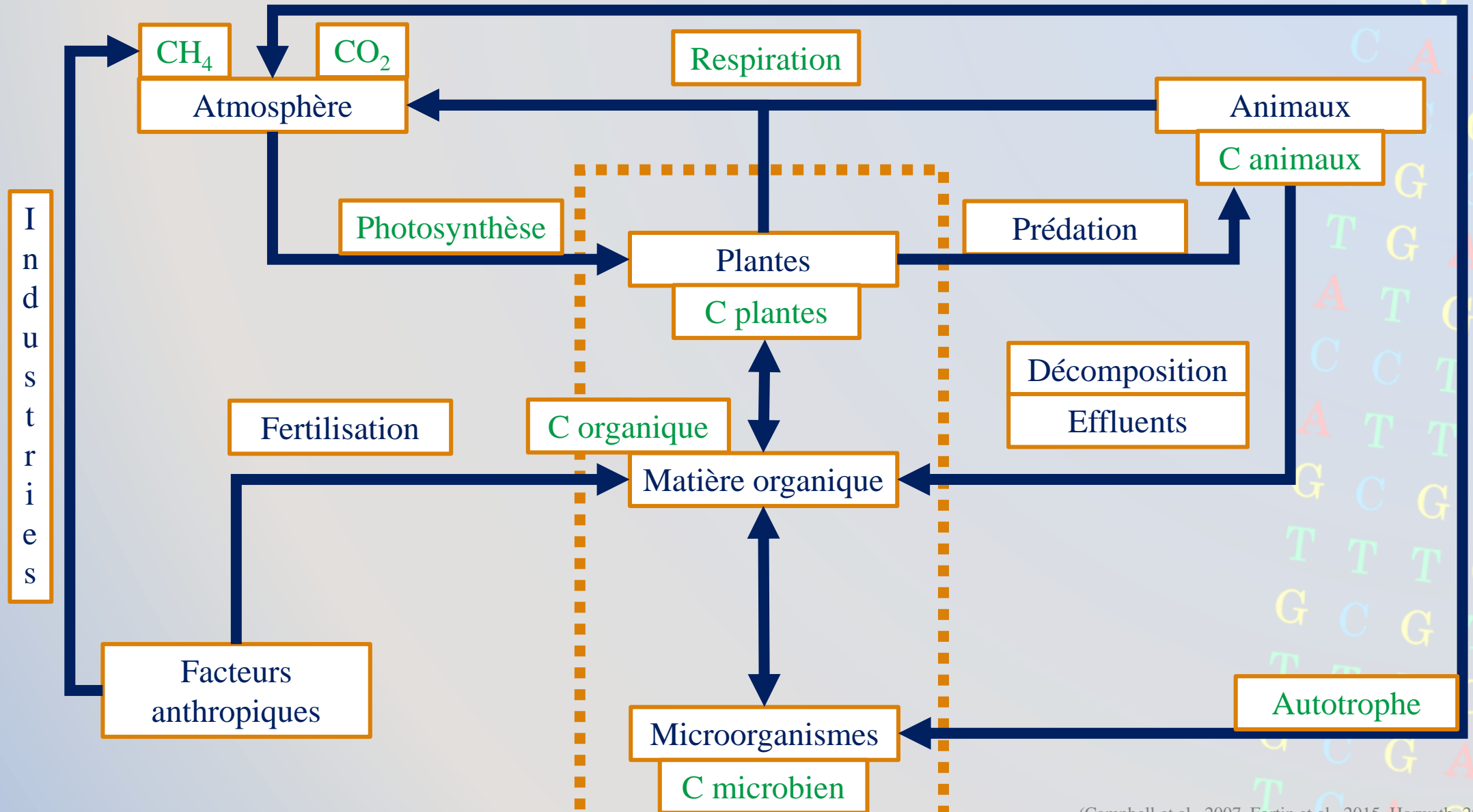
Distribution des OTUs

Distribution des OTUs de CMA en fonction de leur genre pour les deux sites (Loam sableux LS et Argile limoneuse AL) pour 2015

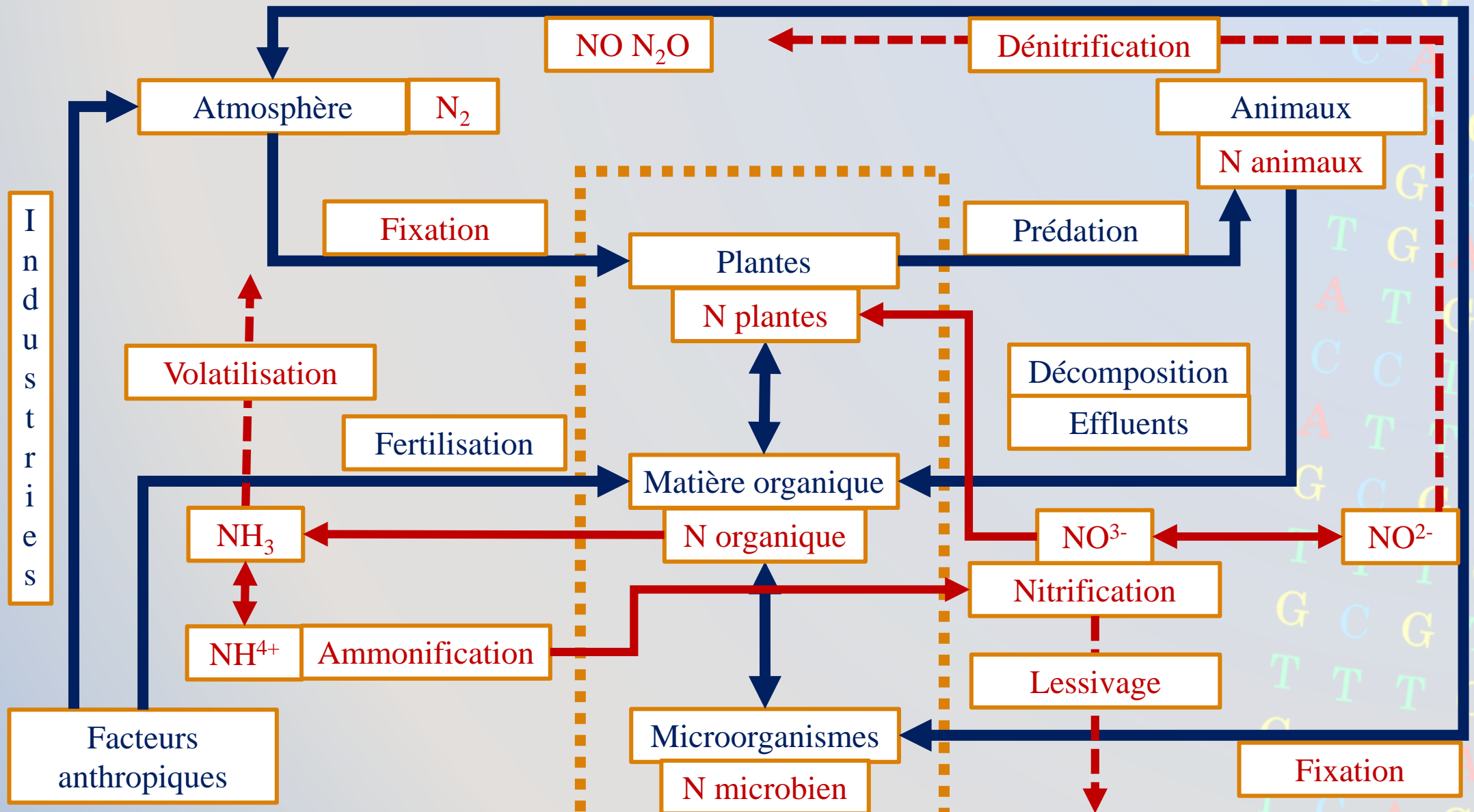


- Tendence au niveau de la classe texturale

Cycle du carbone



Cycle de l'azote



(Bottomley et Myrold, 2015, Campbell et al., 2007, Fortin et al., 2015)

Matériel supplémentaire

Assemblage des séquences

■ Utilisation du programme USearch

1. OTUs pour chaque échantillon

- Arrimage
- Filtration
- Déréplication
- Élimination des singletons
- Création d'OTUs

Exemple de programmation avec USearch

Merge

```
berubeb@665959[usearch] ./usearch81 -fastq_mergepairs  
MI.M00833_0451.001.FLD0193.ITS_AFL1_R1.fastq -reverse  
MI.M00833_0451.001.FLD0193.ITS_AFL1_R2.fastq -fastqout ITS_AFL1_Merge.fastq  
-fastq_minovlen 20
```

Filtration pour la longueur et la qualité

```
berubeb@665959[usearch] ./usearch81 -fastq_filter ITS_AFL1_Merge.fastq -fastaout  
ITS_AFL1_Filtered.fasta -fastq_truncqual 15 -fastq_truncflen 250
```

Dereplication (Échantillons)

```
berubeb@665959[usearch] ./usearch80 -derep_fulllength ITS_AFL1_Filtered.fasta -  
fastaout ITS_AFL1_Derep.fasta -sizeout
```

© Benoit Bérubé

2. Création d'une base de données d'OTUs

3. Comparaisons entre la base de données et les échantillons