



Rapport

Analyse métagénomique en 12S

Échantillonnage réalisé par
FaunENord

Extraction des échantillons et rédaction du rapport final réalisés par

Julie Couillard, PhD – Associée de recherche, INRS – Eau Terre Environnement Laboratoire Valérie
Langlois – Laboratoire en écotoxicogénomique, ADN/ARN environnemental et perturbation endocrinienne
490, Rue de la Couronne, Québec, Québec G1K 9A9

Analyse métagénomique en laboratoire

Fidji Sandré – PhD (INRS – Eau Terre Environnement)

Analyses bio-informatiques

Steve Vissault, Associé de recherche (INRS – Eau Terre Environnement)



**LEPE
LEED**

**IN
RS**

Institut national
de la recherche
scientifique



Table des matières

1	Informations sur le projet	2
1.1	Échantillons	2
2	Paramètres de méthode de laboratoire	2
2.1	Métagénomique - Amorces utilisées	2
2.2	Paramètres PCR	2
2.3	Séquençage	2
3	Paramètres bio-informatiques	2
3.1	Suite d'analyse	2
3.2	Bases de données	2
3.3	Seuils et filtres	2
4	Résultats 12S	3
4.1	Métriques de séquençage	3
4.2	Lectures écartées	3
4.3	Résultats d'identification	3
5	Ratios et taux de perte	3
5.1	Perte de séquences par étape	4
5.2	Efficacité d'annotation	4
6	Statistiques par échantillon	4
6.1	Profondeur de séquençage moyenne	4
6.2	Diversité détectée	4
7	Contrôles qualité	4
7.1	Vérification	4
7.2	Contamination	4
8	Liste des espèces détectées	4
9	Notes importantes	5
9.1	Limitations méthodologiques	5
9.2	Interprétation quantitative	5
10	Résumé des métriques clés	5

1 Informations sur le projet

Client : FaunENord **Date du rapport :** 21 November 2025

1.1 Échantillons

- **Nombre d'échantillons pour analyse 12S :** 7 échantillons
- **Type d'échantillons fournis :** ADN extrait
- **Région géographique :**
- **Espèces ciblées :** Espèces aquatiques (poissons)

2 Paramètres de méthode de laboratoire

2.1 Métagénomique - Amorces utilisées

12S :

- **Type :** MiFish-U-F et U-R (Miya et al. 2015)
- **Taille de l'amplicon :** 174 bp
- **Nombre de cycles PCR :** 35

2.2 Paramètres PCR

- **Type de PCR :** Approche avec combinaison unique de 2 barcodes de 8bp
- **Dilution :** Aucune dilution
- **Volume d'ADN utilisé :** 3 µl par réplicat de PCR
- **Réplicats techniques par échantillon :** 5 réplicats
- **Témoin positif :** Aucun
- **Témoin négatif :** 1 témoin négatif de PCR par échantillon testé + 1 témoin négatif de mastermix

2.3 Séquençage

- **Séquenceur :** AVITI de Element Bioscience
- **Kit :** 300 sequencing kit (2x300)

3 Paramètres bio-informatiques

3.1 Suite d'analyse

- **Logiciel :** Barque (<https://github.com/enormandeau/barque>)

3.2 Bases de données

- **12S :** Base de données Barque (MitoFish, GenBank + banque interne)

3.3 Seuils et filtres

- **Minimum de séquences par espèce :**
 - 10 séquences dans un échantillon
 - 20 séquences total sur le projet
- **Seuil de filtrage :** Séquences $< 1/10,000$ de l'échantillon sont enlevées
- **Similarité minimale pour identification :** 97%

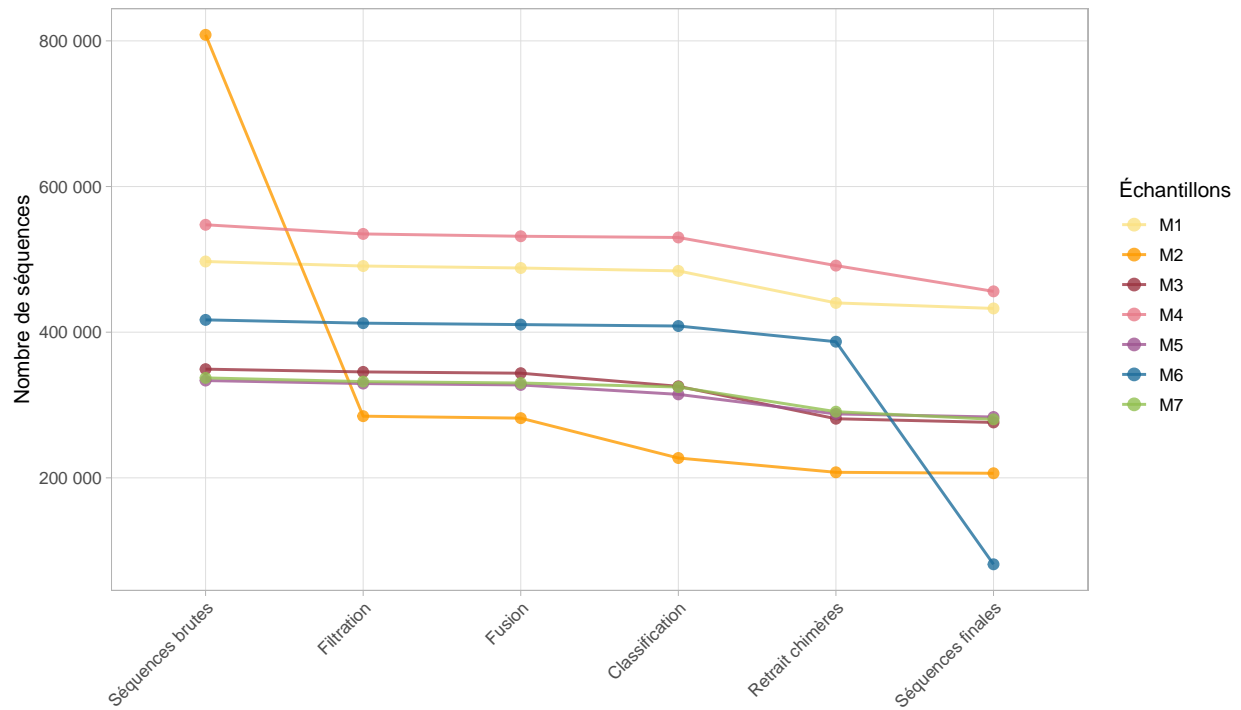


FIGURE 1 – Nombre de lectures écartées lors du post-traitement des données de séquençage

4 Résultats 12S

4.1 Métriques de séquençage

TABLE 1 – Métriques de séquençage par étape du pipeline

Étape	Nombre de séquences
Total de séquences brutes	3 289 859
Après trimming	2 729 922
Après merge	2 713 811
Après split	2 614 974
Après élimination des chimères	2 386 017
Total annotées	2 016 276

4.2 Lectures écartées

4.3 Résultats d'identification

- Nombre d'espèces de poissons détectées : 19
- Nombre de groupes ambigus (Multiple Hits) : 20
- Contrôle négatif de PCR : À vérifier selon échantillons témoins
- Taux d'annotation : 61.3% des séquences brutes (84.5% après élimination des chimères)

5 Ratios et taux de perte

5.1 Perte de séquences par étape

TABLE 2 – Perte de séquences à chaque étape du pipeline

Étape	Séquences perdues	% du total initial
Trimming	559 937	17.0
Merge	16 111	0.5
Split	98 837	3.0
Chimères	228 957	7.0
Annotation	369 741	11.2
Perte totale	1 273 583	38.7

5.2 Efficacité d'annotation

- **Taux de rétention global** : 61.3% des séquences initiales
- **Séquences annotées après filtres** : 84.5% des séquences post-chimères

6 Statistiques par échantillon

6.1 Profondeur de séquençage moyenne

- **Séquences brutes par échantillon** : ~469 980 séquences/échantillon
- **Séquences annotées par échantillon** : ~288 039 séquences/échantillon

6.2 Diversité détectée

- **Ratio espèces/échantillons** : 2.71 espèces par échantillon (moyenne)

7 Contrôles qualité

7.1 Vérification

- **Gel d'agarose** : 1.5% utilisé pour vérifier l'absence de contamination
- **Quantification** : Ultra High Sensitivity dsDNA Quantitation kit (AccuClear) avec Agilent Biotek Synergy LX
- **Distribution taille fragments** : Agilent 2100 Bioanalyzer

7.2 Contamination

À vérifier selon les échantillons témoins fournis dans l'analyse.

8 Liste des espèces détectées

TABLE 3 – Liste des espèces détectées avec nombre total de lectures

Groupe	Espèce	Total lectures
Cyprinidae	Phoxinus eos	375 113
Percidae	Perca flavescens	271 931
Salmonidae	Salvelinus alpinus	197 479

TABLE 3 – Liste des espèces détectées avec nombre total de lectures

Groupe	Espèce	Total lectures
Lotidae	<i>Lota lota</i>	192 217
Catostomidae	<i>Catostomus commersonii</i>	143 993
Leuciscidae	<i>Margariscus margarita</i>	123 475
Esocidae	<i>Esox lucius</i>	87 399
Percidae	<i>Sander vitreus</i>	71 433
Mammal	<i>Bos taurus</i>	59 356
Salmonidae	<i>Coregonus artedii</i>	54 497
Cyprinidae	<i>Notropis hudsonius</i>	36 002
Gasterosteidae	<i>Pungitius pungitius</i>	29 052
Cyprinidae	<i>Couesius plumbeus</i>	12 832
Gasterosteidae	<i>Gasterosteus aculeatus</i>	8 659
Cottidae	<i>Cottus perifretum</i>	324
Salmonidae	<i>Salvelinus namaycush</i>	217
Bird	<i>Gavia immer</i>	119
Salmonidae	<i>Salvelinus curilus</i>	23
Cottidae	<i>Cottus asper</i>	22

9 Notes importantes

9.1 Limitations méthodologiques

- Les résultats ne sont pas garantis car l'extraction n'a pas été effectuée dans le laboratoire
- Certaines espèces rares peuvent ne pas être détectées
- Présence possible de séquences ambiguës (Multiple Hits) pour certaines espèces
- Les amorces 12S peuvent détecter d'autres espèces que les poissons (résultats indicatifs)

9.2 Interprétation quantitative

- Les données 12S MiFish reflètent l'abondance relative des espèces
- L'interprétation en abondance absolue doit rester prudente
- Approche complémentaire aux observations de terrain

10 Résumé des métriques clés

TABLE 4 – Résumé des métriques clés de l'analyse 12S

Métrique	Valeur
Échantillons analysés	7
Séquences brutes	3 289 859
Séquences finales annotées	2 016 276
Taux de rétention	61.3%
Espèces détectées	19
Groupes ambigus	20
Lectures espèce unique	1 664 143 (82.5%)
Lectures multi-espèces	352 133 (17.5%)

Rapport généré automatiquement par barqueReport - 2025-11-21 08 :43 :02