

ORY Benjamin (2023): Establishing a morphometric and molecular protocol to study the diversity of hyalospheniidae in Switzerland

Abstract

Testate amoebae are significant protists in soil ecology, playing various functional roles in the soil microbiome. Despite their well-defined morphological characteristics, the identification and classification of testate amoebae has proved to be challenging due to their phenotypic plasticity and cryptic diversity as demonstrated in recent studies. Utilization of morphological traits alone has been shown to be unreliable and ineffective for taxonomic identification at species level. To avoid this taxonomic misclassification, there is a need to combine molecular sequencing with conventional morphology. Molecular analysis can be time-consuming and expensive especially when a large volume of sample is involved. We isolated and measured 1201 individuals of *Hyalospheniidae*, a relatively well-studied family of testate amoeba, sampled from *Sphagnum* peatlands in Switzerland to establish an integrated morphometric and molecular protocol that is reliable and reproducible. We used a quantitative method using hypervolume to delineate a target group of 89 morphologically distinct unidentified species for further molecular analysis. In addition, we have developed a novel method to break the test of the amoeba thereby increasing the DNA yield during DNA extraction. In conclusion, this research has outlined an effective morphometric protocol for the measurement of *Hyalospheniidae*, developed methods to increase the DNA yield, and discussed the potential for future research in improving the DNA amplification process.

Résumé

Les amibes à thèque sont des protistes importants dans l'écologie des sols, avec des rôles fonctionnels variés dans le microbiome. Cependant, leur identification et leur classification taxonomique sont souvent compliquées en raison de leur plasticité phénotypique et d'une diversité cryptique récemment mise en évidence. Les méthodes traditionnelles d'identification basées uniquement sur des caractéristiques morphologiques sont souvent insuffisantes pour une identification taxonomique fiable au niveau de l'espèce. Pour résoudre ce problème, une combinaison de la morphologie conventionnelle et du séquençage moléculaire peut être utilisée. Cependant, l'analyse moléculaire peut être coûteuse et chronophage, surtout lorsqu'elle concerne un grand nombre d'échantillons. Dans cette étude, nous avons isolé et mesuré 1201 individus de *Hyalospheniidae*, une famille bien étudiée d'amibes à thèque, échantillonnées dans des tourbières de sphagnum en Suisse. Nous avons établi un protocole morphométrique et moléculaire fiable et reproductible, en utilisant une méthode quantitative basée sur le concept d'hypervolume pour délimiter un groupe de 89 espèces non identifiées présentant des caractéristiques morphologiques distinctes, pour une analyse moléculaire ultérieure. De plus, nous avons développé une nouvelle méthode pour briser les théques des amibes et augmenter la quantité d'ADN obtenue après extraction. En conclusion, cette recherche a abouti à un protocole morphométrique efficace pour mesurer les *Hyalospheniidae*, à des méthodes pour augmenter le rendement d'ADN extrait, et à des perspectives de recherche futures pour améliorer le processus d'amplification de l'ADN.