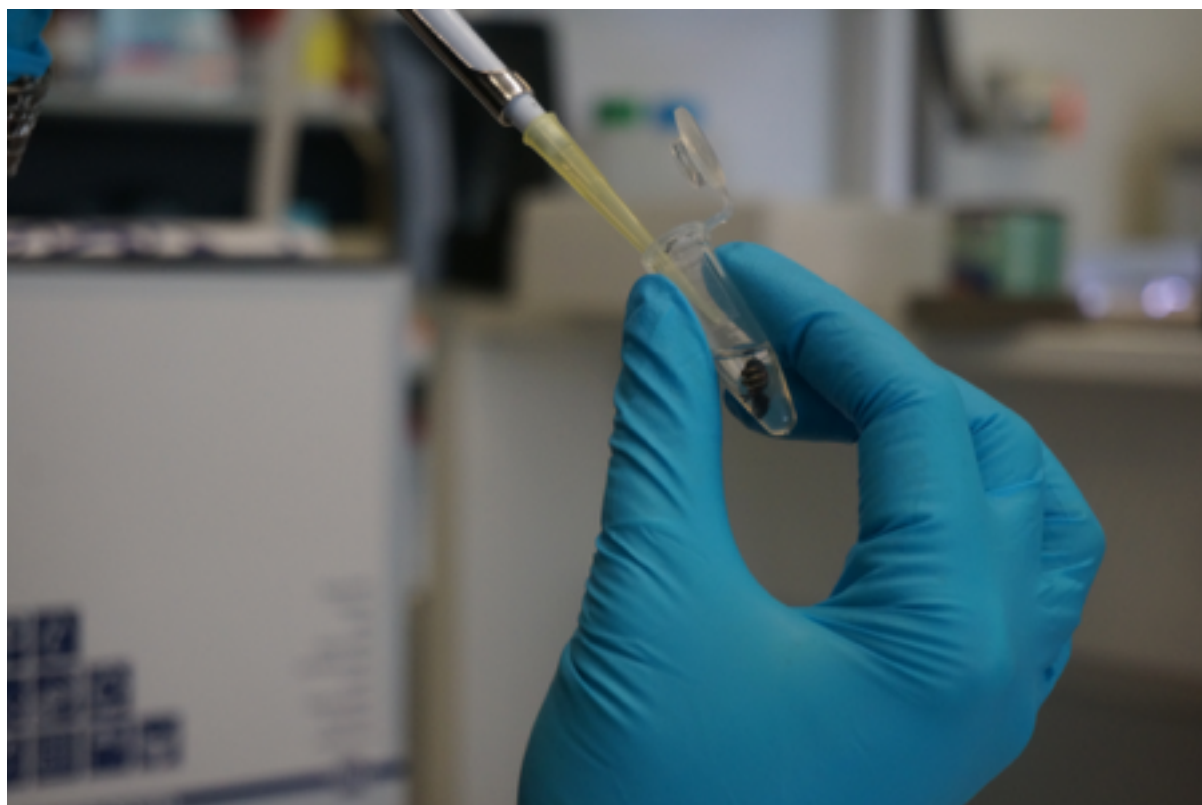


## RAPPORT 2015



LE BILAN APRÈS TROIS ANS

## Pourquoi les codes-barres ADN pour la biodiversité suisse?



Si pour certains l'utilité d'une telle démarche est évidente, d'autres restent dubitatifs sur l'apport potentiel de cet inventaire.

La complexité liée à l'identification des micro-organismes est relativement bien connue et facilement compréhensible. Dans cette perspective, plusieurs projets ont vu le jour au sein du SwissBOL, où les codes-barres ADN ont été appliqués à des groupes de protistes utilisés dans le monitoring de l'environnement, *Quadrullela* et *Nebela*, dans le but d'améliorer la taxonomie actuelle.

Moins bien établie est, par contre, la difficulté qui rencontrent les spécialistes quand il s'agit d'identifier à l'espèce certaines fourmis (*Tetramorium sp.*), certaines musaraignes (*Sorex sp.*) ou certaines femelles ou larves de plécoptères (*Nemoura*, *Isoperla* ou *Leuctra*).

**Dans ces cas précis, les codes-barres ADN permettent une progression dans l'inventaire de la biodiversité et contribuent à l'actualisation du degré de**

**menace lié à une espèce dans le cadre des listes rouges et à la valorisation des centres nationaux par la qualité des données enregistrées.**

De plus, les codes-barres ADN permettent de déceler des erreurs d'identification des espèces sur le terrain ou dans les collections muséales. En effet, au cours de cette première phase, de nombreuses incohérences entre l'identification taxonomique et les résultats génétiques ont été observées.

Tout d'abord, il convient de mentionner que l'approche par groupe taxonomique entreprise par le SwissBOL facilite grandement la détection de ce type de contradiction. Deuxièmement, grâce à un échange étroit entre la plateforme moléculaire, la cellule de gestion de données génétiques et les spécialistes, ces incohérences ont pour la plus part pu être résolues. Celles venant d'une mauvaise identification au départ ont ainsi pu être corrigées avant d'intégrer les bases de données nationales et internationales.

## L'Association SwissBOL: la suite logique d'un réseau national actif

Un des objectifs principaux de la première phase du SwissBOL était l'établissement d'un réseau de scientifiques, représentant plusieurs institutions nationales. Ce réseau a été actif à partir de mai 2013, surtout à travers le développement de projets individuels.

Néanmoins, le besoin de faire évoluer cette entité sur le plan légal s'est vite fait sentir et les différentes options ont donc été étudiées avec soin.

**À la question avons-nous réellement besoin d'une coordination centrale des activités liées au codes-barres ADN en Suisse, la réponse a été unanime et la création de ce mouvement associatif a été accueillie avec enthousiasme.**

L'Assemblée Générale Constitutive s'est tenue le 16 juin 2015 au Muséum d'Histoire Naturelle de Neuchâtel. Les statuts préparés au préalable ont été révisés et adoptés lors de cette rencontre et l'Association compte actuellement 24 membres.

Parmi les membres, des représentants des centres de données, des institutions académiques, des musées d'histoire naturelle et des jardins botaniques.

Le comité composé de 5 membres a été élu pour une durée de 2 ans: Jan Pawlowski, Christoph Scheidegger, Michel Sartori, Yves Gonseth et Sofia Wyler. Lors de la première séance du comité, la stratégie à adopter pour le développement et la continuité à long terme du SwissBOL a été débattue et plusieurs pistes vont maintenant être envisagées avec diligence.

La prochaine AG a été fixée au jeudi 19 mai, pendant laquelle non seulement la vision stratégique du comité sera présentée, mais il sera également question de débattre sur les enjeux autour du metabarcoding et le lien aux bases de données de référence. Un appel à nouveaux membres sera lancé avant la séance et d'après nos premiers sondages plusieurs scientifiques supplémentaires seraient intéressés à adhérer.



## Les Procédures & Les Données

Le développement des projets à l'interne a été très positif pour la mise en place des procédures classiques au niveau national. En outre, les projets externes ont amené une complémentarité à ces procédures, soit parce qu'ils touchent à des organismes qui ne sont pas reconnus par le *DNA barcoding* international, tels que les protistes et les lichens, soit parce qu'ils utilisent le NGS comme technique de séquençage, soit parce qu'ils ciblent plutôt la diversité intraspécifique.

**Quoi qu'il en soit, le SwissBOL vise à prendre en compte les subtilités de chaque projet pour généraliser au maximum les procédures, sans pour autant perdre de la qualité.**

Pendant la finalisation des projets, nous avons pu expérimenter certaines difficultés et nous prenons maintenant les mesures nécessaires pour minimiser les erreurs avant la publication des données. Un certain nombre de priorités ont ainsi pu être établies pour répondre au mieux aux attentes nationales.

En ce qui concerne les projets menés à l'interne, voici la procédure pas-par-pas employée:

1 - Envoi à la plateforme moléculaire des spécimens issus d'un échantillonnage récent (données chorologiques pas enregistrées dans les

bases de données nationales) ou d'une collection muséale (données chorologiques enregistrées ou pas selon la collection et l'institution).

2 - Extraction de l'ADN de façon non-destructive et obtention des séquences. Vérification de la qualité des séquences et validation (ou pas selon les résultats obtenus).

3 - Renvoi aux spécialistes les échantillons et un résumé des résultats obtenus, en soulignant les erreurs détectées pour vérification de l'identification des échantillons posant problème.

4 - Envoi à la cellule de gestion des données la version finale des données chorologiques prêts pour la publication.

5 - Enregistrement/vérification des données chorologiques selon les standards GBIF et soumission à BOLD des séquences univoques.

De plus, la soumission des données de certains projets externes a également commencé de façon sélective, pour mieux cerner et répondre aux potentiels problèmes rencontrés pendant la procédure.

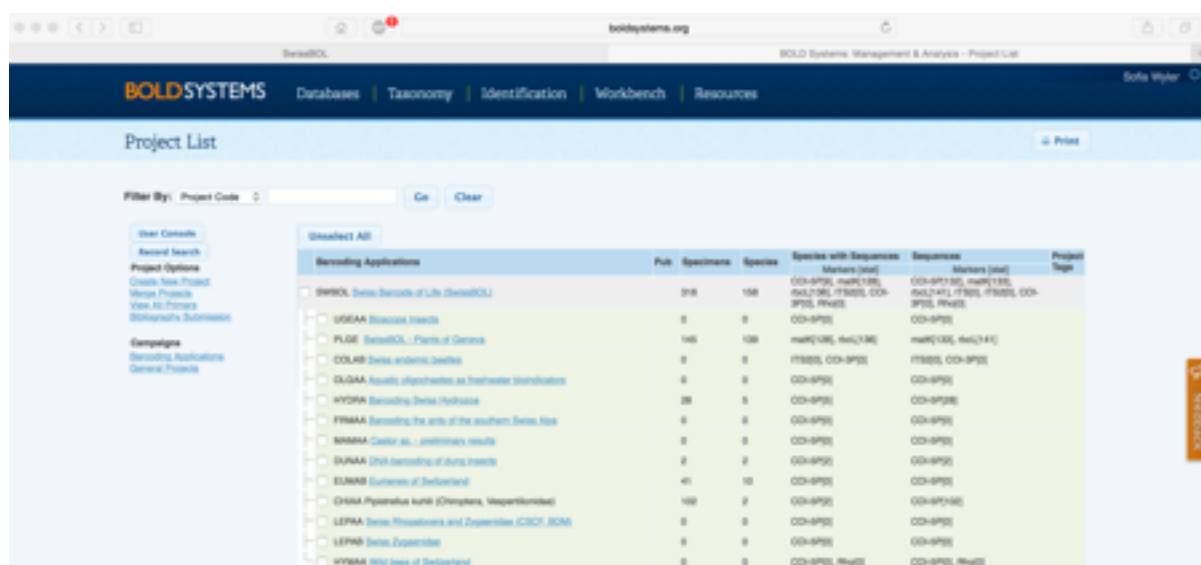
L'ouverture et la gestion des projets dans BOLD est de la compétence de la coordination du SwissBOL. Les différents responsables de projets sont désignés comme utilisateurs ayant tous les droits.

Au printemps 2016, le travail accompli relatif aux données aura une visibilité accrue, à travers le portail GBIF Swiss Node. Ces derniers mois ont été dédiés à la mise en place de deux volets en rapport avec la génétique, un pour les séquences et l'autre pour les extractions ADN.

En ce qui concerne les séquences, nous avons décidé d'avoir en même temps le *Accession number* de GenBank pour les séquences (qui sera présent dans tous les projets) et le *Sample ID* de BOLD pour le

spécimen (qui sera rempli que pour les organismes reconnus du *DNA barcoding* international, à savoir les animaux, les plantes et les champignons).

Pour les extractions ADN, nous avons pris en compte les champs proposés par le *DNA Bank Network*. Dans un deuxième temps, nous avons l'intention de faire partie de ce network, mais avant cela nous devons assurer que les exigences correspondent aux besoins des potentiels utilisateurs nationaux.



Project Code	Pub	Specimens	Species	Species with Sequences	Sequences	Markers (mt)	Project Type
SWISS Barcode of Life (SwissBOL)	318	158	CO-SP2, mtC138, mtC139, mtC140, mtC141, mtC142, CO-SP3, mtC143	CO-SP2, mtC138, mtC139, mtC140, mtC141, mtC142	CO-SP2, mtC138, mtC139, mtC140, mtC141, mtC142	CO-SP2, mtC138, mtC139, mtC140, mtC141, mtC142	
SOBA Barcode of Life	0	0	CO-SP2	CO-SP2	CO-SP2		
FLGE Barcode of Life	148	148	mtC138, mtC139	mtC138, mtC139	mtC138, mtC139		
COLAB Barcode of Life	0	0	mtC138, CO-SP2	mtC138, CO-SP2	mtC138, CO-SP2		
QUGAA Barcode of Life	0	0	CO-SP2	CO-SP2	CO-SP2		
HYORA Barcode of Life	28	5	CO-SP2	CO-SP2	CO-SP2		
FIMAA Barcode of Life	0	0	CO-SP2	CO-SP2	CO-SP2		
MIMAA Barcode of Life	0	0	CO-SP2	CO-SP2	CO-SP2		
SUNAA Barcode of Life	2	2	CO-SP2	CO-SP2	CO-SP2		
EUMAB Barcode of Life	41	10	CO-SP2	CO-SP2	CO-SP2		
Grand Répertoire Suisse (Chrysope, Vespa)	142	2	CO-SP2	CO-SP2	CO-SP2		
LEPAA Barcode of Life	0	0	CO-SP2	CO-SP2	CO-SP2		
LEPAB Barcode of Life	0	0	CO-SP2	CO-SP2	CO-SP2		
HYBAR Barcode of Life	0	0	CO-SP2, mtC138	CO-SP2, mtC138	CO-SP2, mtC138		

## Pourquoi autant de temps pour établir ces procédures ?

- Parce que le SwissBOL met en relation des partenaires très différents, qui expriment des besoins, des exigences et des méthodologies très distincts.
- Parce que la diversité des projets/organismes requiert des attentions particulières avant la généralisation (si généralisation globale existera un jour...).
- **Parce que le SwissBOL vise à harmoniser ses procédures avec celles reconnues par la confédération, pour la gestion des données sur la biodiversité.**

## Pourquoi autant de précaution et de prudence ?

Une des raisons est liée à la qualité. Les séquences enregistrées dans BOLD ou GenBank serviront de « modèle » pour de futurs utilisateurs. Malheureusement, encore aujourd'hui de multiples erreurs se trouvent dans ces bases de données, qui doivent donc être utilisées avec un peu de recul. D'un point de vue déontologique, il incombe à celui/celle qui diffuse les séquences de maintenir un certain niveau. **Le SwissBOL milite pour des données de qualité et y met son énergie à la réalisation de cet objectif.**



## Etat des lieux des Projets

Plantes de Genève - 140 espèces; 145 spécimens; 274 *barcodes*. Le projet est terminé et les données sont publiques dans BOLD. Un spécimen avait été mal identifié et grâce aux codes-barres ADN les données le concernant ont pu être corrigées avant d'intégrer les bases de données nationales et internationales. Ce projet pilote a permis de comprendre le fonctionnement de BOLD et d'établir la meilleure façon de calibrer les données pour la soumission.

Diatomées - Méthodologie NGS. Le projet est terminé et les données ont fait l'objet d'un master et ont été publiées dans un article scientifique.

- Amorim Visco, Joana (2015) Diatoms as bioindicators: A molecular approach. Master thesis.
- Amorim Visco, Joana; Apothéloz-Perret-Gentil, Laure; Cordonier, Arielle; Esling, Philippe; Pilet, Loic; Pawlowski, Jan (2015) Environmental monitoring: inferring diatom index from next-generation sequencing data. *49(13): 7597-605*.

Insectes aquatiques (Plécoptères) - 97 espèces; 375 spécimens; 252 *barcodes*. Le projet est en phase terminale et les échanges avec les responsables du projet sont bien entamés. Les résultats obtenus ont déjà été présentés lors du congrès international d'Ephémères et Plécoptères (5th International Ephemeroptera Conference; 9th International Plecoptera Conference) et feront partie des *Proceedings* de ce congrès.

- Gattolliat Jean-Luc, Vinçon Gilles, Wylér Sofia, Pawlowski Jan, Sartori Michel (*submitted*) Towards a comprehensive barcode library for Swiss Stoneflies (Plecoptera). *Mayflies and stoneflies : life histories and biology : proceedings of the 5th International Ephemeroptera Conference and the 9th International Plecoptera Conference*.

Fourmis - 80 espèces; 146 spécimens; 118 *barcodes*. Le projet est en phase terminale et a été développé dans le cadre de l'actualisation de la liste rouge des fourmis menacées de Suisse. Deux spécimens avaient été mal identifiés et grâce aux codes-barres ADN les données les

concernant ont pu être corrigées avant d'intégrer les bases de données nationales et internationales. La vérification de six autres spécimens est en cours. Les codes-barres ADN apportent un plus dans ce groupe, pour qui l'identification de certaines espèces est très difficile et fastidieuse (i.e. *Tetramorium spp.*, *Lasius gr. umbratus*, *Formica lugubris/paralugubris*).

Gastéropodes - 94 espèces; 97 spécimens; 50 *barcodes*. Ce projet est toujours en cours et les analyses moléculaires ne sont toujours pas finies. Cet étude s'avère plus difficile que prévu au départ, du à la difficulté à obtenir des séquences de qualité. D'une part cette difficulté semble être liée à la présence de coquilles vides et d'autre part à une mauvaise identification des spécimens au préalable. De plus, des contaminations potentiellement survenues pendant les analyses ou dues au mucus environnemental viennent rajouter de la confusion et des doutes.

Papillons diurnes - 226 espèces; 907 spécimens; 640 *barcodes*. Ce projet est toujours en cours et les analyses moléculaires ne sont toujours pas finies, les derniers spécimens étant arrivés à la plateforme en octobre dernier. Ce projet sort de la collaboration avec le programme Biodiversity Monitoring (BDM) financé par l'Office Fédéral de Environnement pour le monitoring de la biodiversité en Suisse.

Oligochètes aquatiques - 26 espèces morphologiques (41 lignées); 185 spécimens; 185 *barcodes*. Le projet tel que imaginé au départ est fini, mais continue sous une autre forme (Next-generation sequencing of aquatic oligochaetes). La base de données de référence continue ainsi à être alimentée par des *barcodes* reconnus.

- Vivien, R., Wyler, S., Lafont, M. & Pawlowski, J. (2015) Molecular barcoding of aquatic oligochaetes: implications for

biomonitoring. *PLoS ONE* 10(4): e0125485.

- Vivien R., Lafont M. (2015) Faunistic note on the aquatic oligochaetes of the Geneva area and of Switzerland. *Revue Suisse de Zoologie* 122(2).

Taupins - 37 espèces; 155 spécimens; 217 *barcodes*. Ce projet est toujours en cours et les analyses moléculaires ne sont toujours pas finies, les derniers spécimens étant arrivés à la plateforme en octobre dernier. Les résultats préliminaires montrent que Col est performant pour séparer les espèces. La seule exception s'agit des espèces *A. pomorum* et *A. nemoralis* pour qui la distinction morphologique est également problématique, suggérant une synonymie de ces deux espèces.

Mouches à longues pattes - 159 espèces; 466 spécimens; 129 *barcodes*. Le projet est toujours en cours et les analyses moléculaires ne sont toujours pas finies. Nous avons rencontré des problèmes d'analyse et un nombre important d'échantillons n'a pas pu être amplifié. Selon les spécialistes, ce problème serait lié à la mauvaise qualité de l'ADN des échantillons, dégradé pendant la conservation.

Coléoptères endémiques - 106 espèces; 187 spécimens; 273 *barcodes*. Le projet est en phase terminale tel que imaginé au départ et nous sommes à bout touchant pour soumettre les séquences à BOLD. Ce projet continue sur une deuxième phase (financé par le Musée de Lucerne et l'Université de Genève) avec 119 spécimens complémentaires qui sont actuellement en cours d'analyse à la plateforme moléculaire.

Agents de contrôle biologique - Projet interrompu faute de contact dans les boîtes commercialisant les agents de lutte biologique. Ce projet se poursuit dans une

forme de collaboration internationale avec des spécialistes français.

Collemboles - Projet interrompu faute de spécialiste. La somme d'argent qui avait été allouée à ce projet a été transférée dans deux nouveaux projets: *Torymus* et *Nebela*.

Torymus - 2 espèces; 100 spécimens. Ce projet est en cours et fait l'objet d'une étude de master. Les résultats contribueront à une prise de décision de l'Office Fédéral de l'Environnement, quant à la potentielle utilisation de *Torymus sinensis* comme agent de lutte biologique contre le cynips du châtaignier, *Dryocosmus kuriphilus*.

Nebela - 8 espèces; 50 spécimens. Les résultats NGS ont révélé l'existence potentielle de trois espèces cryptiques. Ce projet est en cours et se terminera au courant de l'année 2016.

Quadrullella - 28 spécimens; 6 *barcodes*. Les résultats ont été présentés oralement au Congrès Européen de Protistologie (2015) et un article est en cours de préparation pour être soumis à *Cladistics*.

Oomycètes invasives - 2 espèces; 30 spécimens; 30 *barcodes*. Ce projet est toujours en cours et est une continuation d'un projet initial financé par l'Office Fédéral de l'Environnement. Les données permettront de quantifier les population de *Saprolegnia* natives et invasives. Plusieurs publications ont vu le jour avec les résultats obtenus.

- Steciow, M.M., Lara, E., Paul, C., Pillonel, A. and Belbahri L. (2014) Multiple barcode assessment within the *Saprolegnia*-*Achlya* clade (Saprolegniales, Oomycota, Straminipila) brings order in a neglected group of pathogens. IMA Fungus volume 5 no 2: 439–448.
- Alenezi FN, Weitz HJ, Belbahri L, Nidhal J, Luptakova L, Jaspars M, Woodward S. (2015). Draft genome sequence of

*Aneurinibacillus migulanus* NCTC 7096. Genome Announcements 3(2):e00234-15.

- Alenezi FN, Weitz HJ, Belbahri L, Ben Rebah H, Luptakova L, Jaspars M, Woodward S. (2015). Draft genome sequence of *Aneurinibacillus migulanus* strain Nagano. Genome Announcements 3(2):e00232-15.

Chauves-souris pipistrelle - 2 espèces; 102 spécimens; 102 *barcodes*. Le projet est terminé et les données sont publiques dans BOLD. Ce projet externe a permis de comprendre le fonctionnement de BOLD et d'établir la meilleure façon de procéder avec l'ouverture et la gestion des projets. Ce projet a fait l'objet d'un master et ont été publiées dans un article scientifique.

- Andriollo T. (2015) Cryptic species or major lineages among Swiss Pipistrelle bat? Master Thesis.
- Andriollo T., Naciri Y. & Ruedi M. (2015) Two barcodes for one biological species in European Kuhl's pipistrelles (Chiroptera) 10(8):e0134881.

Vers de terre - 10 espèces; 100 spécimens; 60 *barcodes*. Ce projet est toujours en cours et est en phase d'analyse des résultats. Une diversité cryptique est soupçonnée au sein de l'espèce *Allolobophora chlorotica*, qui doit encore être confirmée par des analyses morphologiques détaillées.

Eumenes - 10 espèces; 41 spécimens; 41 *barcodes*. Le projet est terminé et la soumission à BOLD est en cours. Avec le responsable du projet, nous testons les procédures pour une soumission d'un projet externe.

- Neumeyer Rainer & Praz, Christophe How many species of the potter wasp genus *Eumenes* Latreille, 1802 (Hymenoptera: Vespidae: Eumeninae) do we have in Switzerland?



Insectes du fumier - Méthodologie NGS; 8 espèces; 2 nouveaux *barcodes*. Le projet est terminé et les données sont publiques dans BOLD. Ce projet démontre de l'applicabilité technique de la méthodologie mise au point. Néanmoins, une base de données de référence pour les organismes du fumier apporterait un net avantage à son utilisation plus élargie.

- Blanckenhorn, Wolf; Rohner, Patrick; Bernasconi, Marco; Buser, Andres; Haugstetter, Johannes (submitted) Is quantitative mass barcoding of dung fauna biodiversity feasible? Environmental Toxicology and Chemistry.

Nématodes du sol - 20 espèces; 300 spécimens; 190 *barcodes*. La technique de *DNA-barcoding* est très utile dans la détermination de la diversité d'espèces dans ce groupe d'organismes.

- Kiewnick, S. & Frey, J. (2014) Swiss NEMA-BOL: Barcoding of Swiss Soil Nematodes – A Proof of Concept. Julius-Kühn- Archiv. 447:532
- Kiewnick, S. Büchler, U., Roth, I. & Frey, J. (2015) SWISSBOL: Barcoding of Swiss Soil Nematodes. 43. Tagung d. DPG Arbeitskreises Nematologie

Araignées - 300 espèces; 500 spécimens; 192 *barcodes*. Les données font l'objet d'un master.

- Spasojevic Tamara "Barcoding of European spiders: closely related species in the genus Araniella (Araneae, Araneidae)" Master thesis.

Zygènes - 18 espèces; 60 spécimens; 60 *barcodes*. Le projet est terminé et la soumission à BOLD est en cours. Avec le responsable du projet, nous testons les procédures pour une soumission d'un projet externe. Les résultats obtenus ont été présentés lors de « Lepidopterologen-Tagung" (Bern 22.11.2014) et une publication est en cours de préparation.

- "Résultats préliminaires du barcoding des Zygènes de Suisse statut taxonomique

des Zygènes du groupe *romeo / osterodensis* dans l'ouest du pays".

Ptéridophytes primitives - 13 espèces (2 hybrides); 48 spécimens; 48 *barcodes*. Ce projet est toujours en cours.

- Maccagni, A., Sandoz, FA, and Grant JR. (2014) DNA barcoding of horsetails (*Equisetum*: Equisetaceae) in Switzerland.

Lichens - Méthodologie NGS. 100 espèces; 100 spécimens. Ce projet est à bout touchant et le succès de la méthode à générer des code-barres ADN montre l'utilité de la démarche à plus ample échelle. Les résultats ont été présentés lors du 6th International Barcode of Life Conference, 2015.

Basidiomycètes - 70 espèces; 122 spécimens; 149 *barcodes*. Ce projet est toujours en cours et il participe à la mise en place de la base de données nationale des champignons (Swissfungi), qui est la source principale d'information en matière de conservation au niveau fédéral.

Champignons du blé - 13 espèces; 132 *barcodes*. Ce projet est terminé, mais les séquences ne sont pas encore disponibles.

- Wild P, Dorribo V, Pralong J, Reboux G, Oppliger A, Danuser B, Krief P, Niculita-Hirzel H. (2014) Respiratory effects of an exposure to wheat dust among grain workers and farmers: a longitudinal study. *EPICOH 2014*.
- Niculita-Hirzel H., Wild P, Dorribo V, Pralong J, Reboux G, Danuser B, Krief P. (2015) Types de poussières de blé et effets respiratoires. *27 journées Franco-Suisse de Santé au travail*.
- Barrera C, Wild P, Dorribo V, Laboissière A, Pralong J, Danuser B, Krief P, Millon L, Reboux G, Niculita-Hirzel H. (*in prep*) Immunological responses to microorganism and acute respiratory effects among grain workers and farmers.

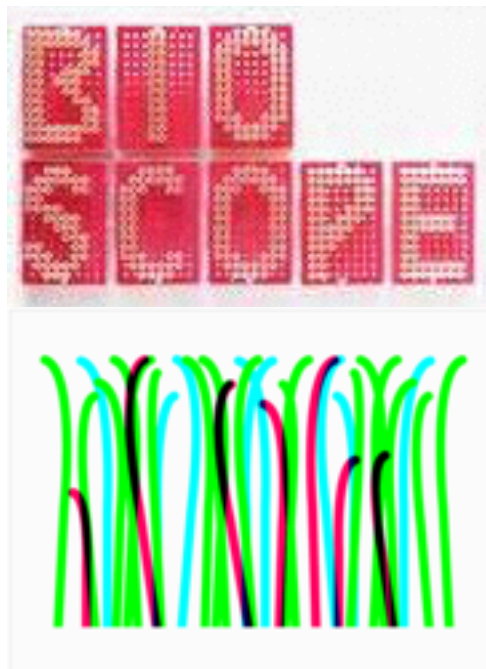
## Le SwissBOL en 2016

La coordination du SwissBOL (salaire) sera assurée par un fond privé et par intermédiaire du Bioscope. Le Bioscope est le laboratoire public consacré aux sciences de la vie et aux sciences biomédicales de l'Université de Genève. Le fond alloué contribue au développement du projet Biodiversité Participative, selon lequel un dispositif de sensibilisation, d'éducation et d'action sera mis en place à travers le développement de différentes activités qui visent la mobilisation de la population genevoise.

Plus concrètement le SwissBOL sera partie prenante dans deux activités en lien avec les code-barres ADN. **Le rôle du SwissBOL est de garantir le *work flow* (procédures et délais des analyses) et d'assurer la qualité des données produits (exigences suisses pour intégrer les données dans le centres nationaux).**

En parallèle, les activités de coordination pourront également être garanties. Ces activités concernent principalement:

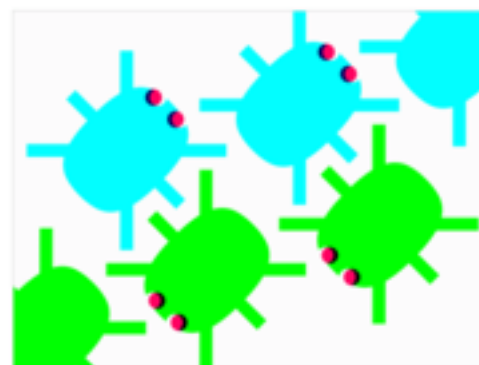
- la soumission et la gestion des données des projets lancés pendant la première et deuxième phases;
- l'engagement des données génétiques dans les bases de données nationales pertinentes pour la confédération (GBIF);
- la valorisation des données à travers l'élaboration de documents visant la diffusion des résultats obtenus - un rapport *hands on* qui permettra une analyse détaillée de chaque projet; une plaquette/flyer résumant les principaux faits accomplis; une mise à jour plus assidue du *site web*;
- la fédération des membres de autour d'une rencontre prévue en mai;
- le lancement de nouveaux projets, à travers des recherches de fonds concertées.



### **La flore genevoise en codes-barres**

THEME Environnement, Génétique  
DEGRE 11e LS CO | 2-4PO | Grand public

Participer à un véritable projet de recherche citoyen sur les plantes du bassin genevois et contribuer à la nouvelle banque de données génétiques internationale BOLD qui recense toute la biodiversité terrestre.



### **Les insectes sur la ville**

THEME Environnement  
DEGRE 9-10CO (12-14 ans)

Récolter des spécimens d'insectes, découvrir leur classification sur un arbre de la vie interactif et extraire leur ADN en abordant les notions d'espèce et de biodiversité invisible, dans le cadre d'un véritable projet de recherche international.