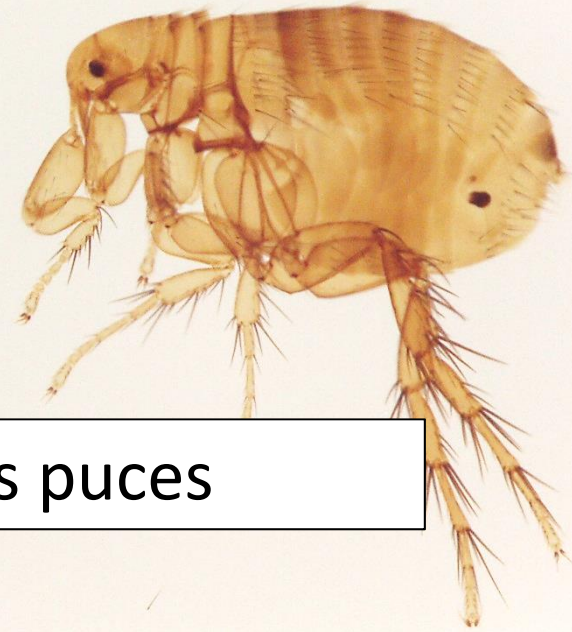


500  $\mu$ m

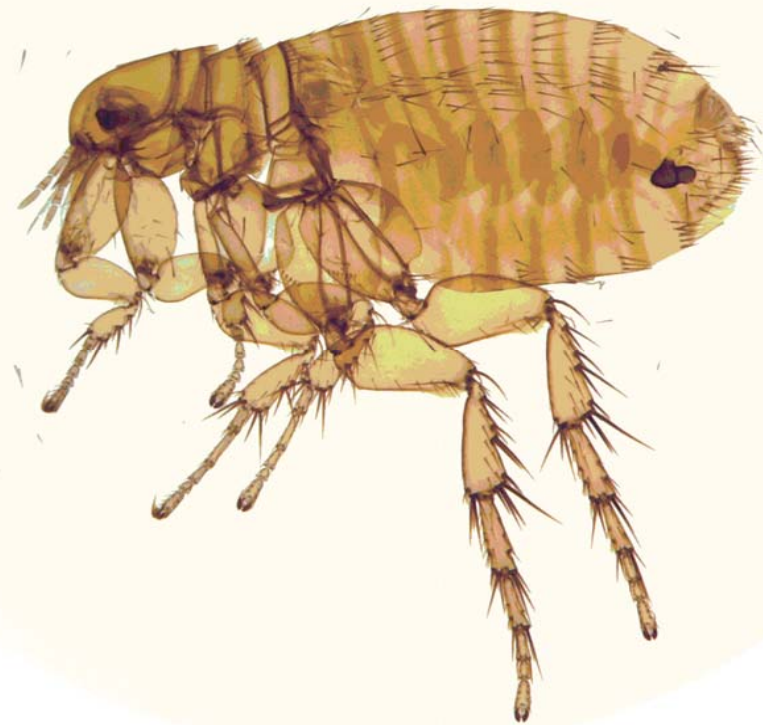
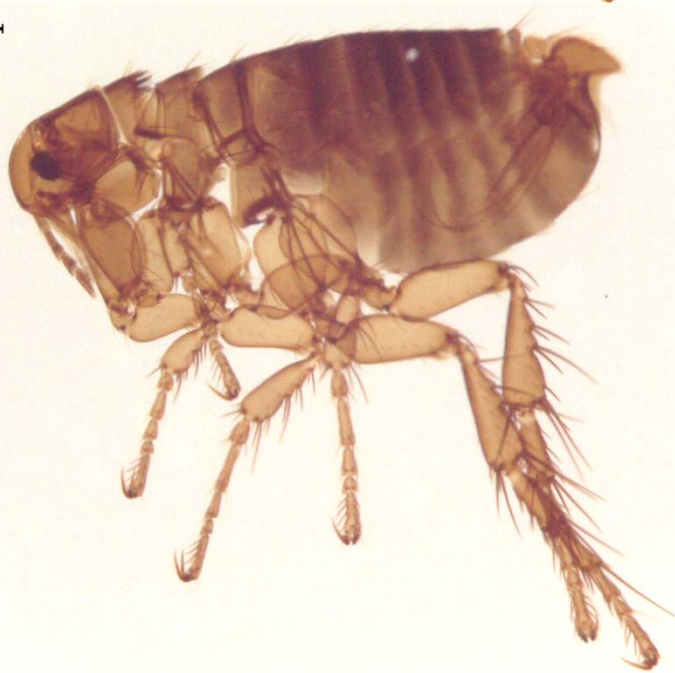


500  $\mu$ m



## Etude taxonomique des puces

500  $\mu$ m



## Pourquoi des puces pour une systématienne spécialiste des pucerons?

1. Question: L'expérience acquise sur un groupe taxonomique permet elle d'être rapidement compétente dans l'étude taxonomique d'un autre groupe
2. Prise de recul sur mon groupe d'étude principal: les pucerons
3. Possibilité de développer des outils de la systématique non utilisés chez les pucerons  
ex: analyse de forme

### Conditions requises -> Choix du groupe

\* Besoins en identification et en travaux taxonomiques-> Interaction 

\* Insectes 

\* Raisonnable en nombre d'espèce (Temps limité) 

\* Ouvrage de synthèse (Clés d'identification) disponible 

\* Méthode de préparation et de gestion proche des pucerons (Temps limité) 

\* Echantillonnage  

# objectifs

## APPORTER UNE EXPERTISE TAXONOMIQUE

- \* Identification fiable
- \* Délimitation d'espèces
- \* Description de nouveaux taxons

## REALISER DES TRAVAUX DE SYNTHESSES

- \* Faune
- \* Outils d'identification (Clés morphologique, Barcoding, etc...)
- \* Révision

# Démarche

Etape 1:

CRÉER LES OUTILS



Etape 2:

ACQUERIR DE L'INFORMATION



Etape 3:


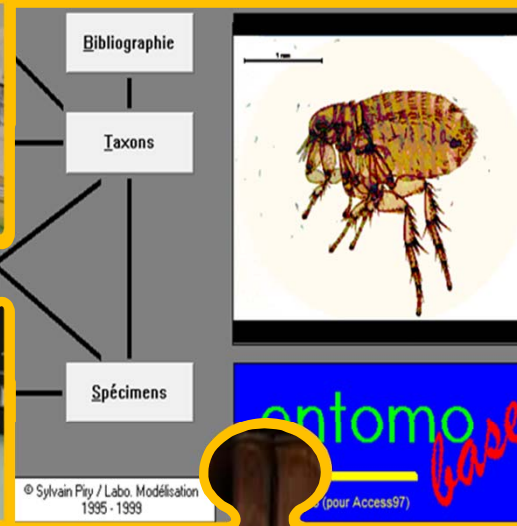
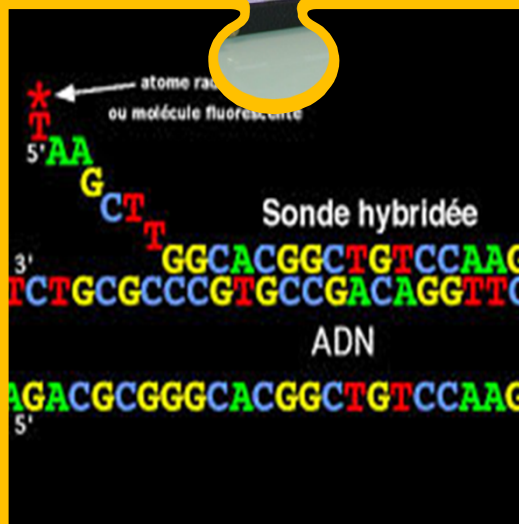

CRITIQUER L'INFORMATION



Etape 4:

SYNTHETISER ET RETRANSMETTRE L'INFORMATION

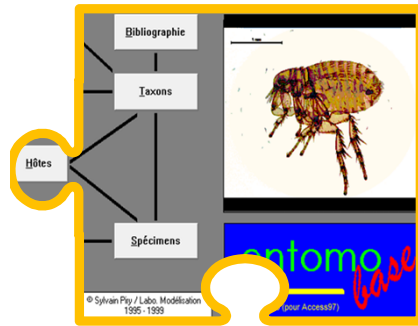
# LES OUTILS

Collection de spécimens	Base de données
 <p>Hôtes</p>	 <p>Bibliographie</p> <p>Taxons</p> <p>Hôtes</p> <p>Spécimens</p> <p>entomo base</p> <p>(pour Access97)</p> <p>© Sylvain Piry / Labo. Modélisation 1995 - 1999</p>
 <p>atome radioactif ou molécule fluorescente</p> <p>5' AA</p> <p>G C T T</p> <p>Sonde hybridée</p> <p>3' GGCACGGCTGTCCAAGGA</p> <p>5' TCTGCGCCCGTGCCGACAGGTTCTCC</p> <p>ADN</p> <p>5' AGACGCGGGCACGGCTGTCCAAG</p>	
Outil moléculaire	Bibliographie



## Collection de spécimens

- \* Mis au point préparation microscopique des spécimens
  - \* Recherche méthode traditionnelle
  - \* Application méthode puceron-> Optimisation temps
  - \* Adaptation pour préparation après extraction ADN non destructive
  - \* Préparation entre lame et lamelle test milieu de préparation: Eukitt
  
- \* Gestion des tubes et lames
  - \* Numérotation continue -> gain de place mais nécessite base de données
  - \* Gestion des étiquetages
  
- \* Mis au point Photographie des spécimens
  
- \* Apprentissage de la morphologie et première identification (Pour l'instant que seulement 7 espèces !)

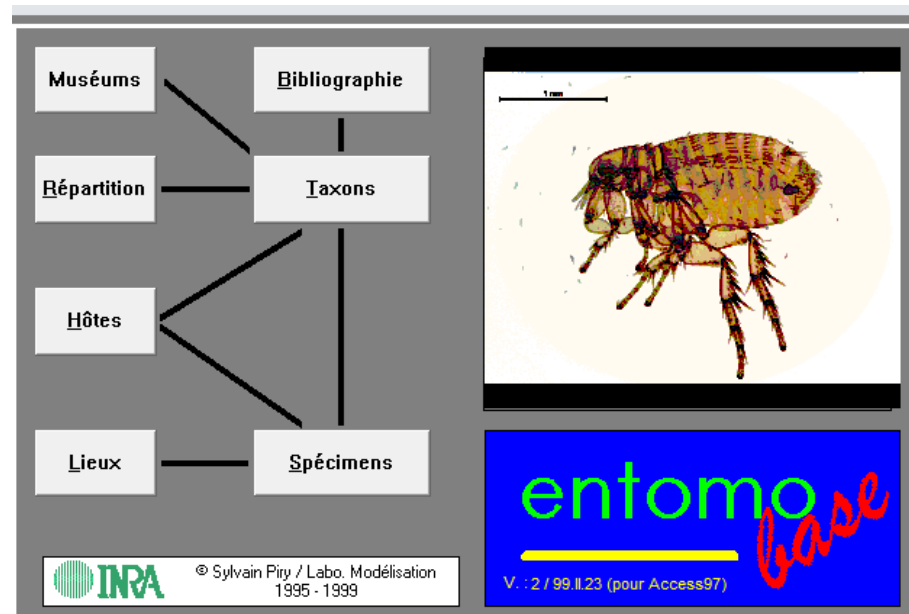


## Base de données

\* Adaptation de la base de données Entomobase : base de données Access utilisée pour les pucerons depuis 1999

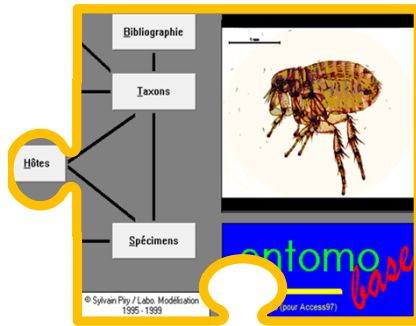
-> Maîtrise de l'outil: Autonomie pour modification et interrogation

-> Efficacité testé depuis 15 ans



\* Gestion des informations sur les spécimens en collection: tubes et lames

\* Stock les informations de la bibliographie: Hôte, Distribution avec bibliographie liée



## Base de données

## Gestion des codes

\* Code terrain: n'importe quoi écrit sur tube

\* Code BD-ext: lien code base de données rongeurs

\* Biologic: pour intégration dans base de données entomologique labo

Spécimens triés par numéros

**Flea 2** biologic code

*Xenopsylla cheopis* (Rothschild, 1903) [red X] [green check]

Niger, Boumba [red X] [green check]

code\_terrain: **BOU76** code\_BD\_ext:

Hôte: **Mastomys natalensis** Smith, 1834 [red X] [green check]

Jour Mois Année Récolt.:

Statut: **DNA-Voucher**

Support: **Eukitt**

N° PUCE:


Nombre:

Sexe: **Femelle**

Det.: **Cœur d'acier A.**

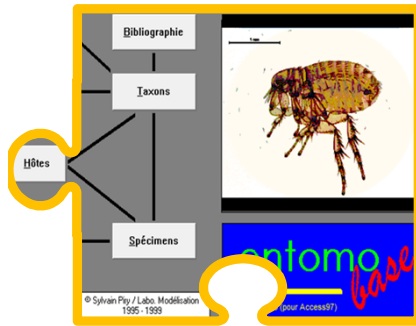
Année:

commentaire de détermination:



Navigation: [back] [forward] [help] [refresh] [print] [close] [filter] [grid]





## Base de données

Obligatoire ! A fournir avec les spécimens

- \* Nom de l'hôte (Indiquer si inconnu)
- \* Localité : la plus précise possible, si possible point GPS
- \* Date de récolte
- \* Nom du récolteur

Spécimens triés par numéros

**Flea 2** Biologic code

*Xenopsylla cheopis* (Rothschild, 1903)

Niger, Boumba

code\_terrain: BOU76 code\_BD\_ext: Statut: DNA-Voucher

Hôte: Mastomys natalensis Smith, 1834 Support: Eukitt

N°\_PUCE: 2

Nombre: 1

Jour Mois Année Récolt. Garba M. Sexe: Femelle

28 7 2011

Commentaire:

Det.: Cœur d'acier A.

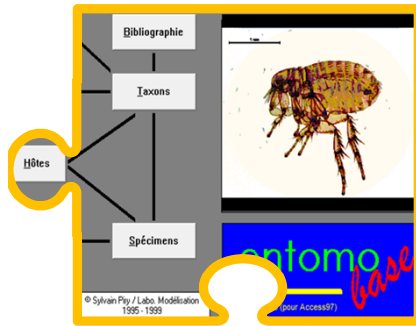
Année: 2015

commentaire de détermination:

Navigation icons: back, forward, search, print, close, filter, calendar

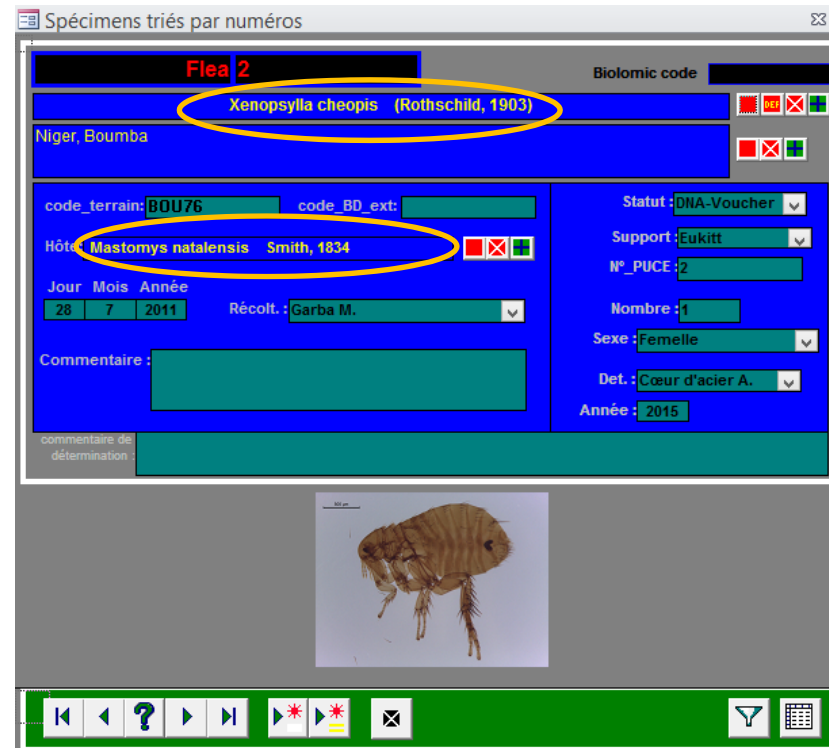
-> Si ces données sont entrées avec les données du tubes elles sont dupliquées automatiquement pour chaque spécimen préparé à partir de ce tube -> Gain de temps et évite les erreurs.

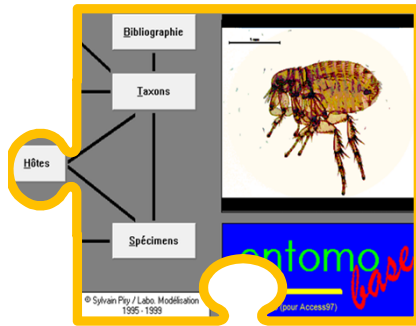
## Base de données



- \* Liste des mammifères mondiaux
  - Données disponible (Sylvain)-> mis en forme et importation

- \* Liste des puces mondiales
  - Récupérations des données
  - <http://www.zin.ru/Animalia/Siphonaptera/>
  - The Zoological Institut of the Russian academy of Sciences
  - mise en forme et importation





## Base de données

Une idée de la diversité des puces

Puces (Medvedev, 1994, 1998)

1 ordre: SIPHONAPTERA

4 sous ordres

10 super familles

18 familles

24 sous familles

49 Tribus

241 Genres

1988 espèces

828 sous-espèces

Mammifères

29 ordres [1-2277 sp.]

18 sous ordres

8 superfamilles

153 familles

139 sous familles

39 Tribus

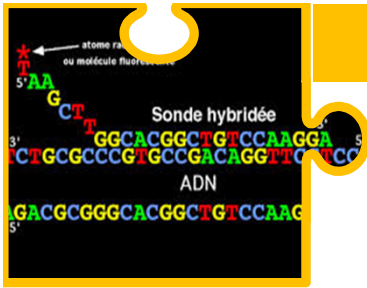
1230 Genres

3802 espèces



## Bibliographie

- \* Références Zoological Record: 1866->2012 : 6324 références base Endnote
- \* Début récupération des pdf: 160 pdf (2015)
  - \* Documents récents
  - \* Scan ouvrage de référence (Prêt bibliothèque): Hopkins et Rothschild 1953, 1966
    - Clés d'identification « puces mondiales » -> apprentissage termes morphologiques + première identification
  - \* Anciens documents : site BHL [<http://www.biodiversitylibrary.org/bibliography/>]
    - Récupération description originale *Xenopsylla spp.*
- \* Ouvrage puces de France disponible labo



## Outil moléculaire

1<sup>er</sup> Objectif: Mise au point de l'outil barcode

1<sup>er</sup> lot de puce pour tester: les amorces, la variabilité du COI etc..

Nécessité d'avoir des espèces variées pour mise au point relativement générique-> Objectif : pouvoir traiter à l'avenir n'importe quel groupe sans mise au point supplémentaire.

Permet aussi d'étudier critères morphologiques de plusieurs familles de puces, et d'utiliser les clés

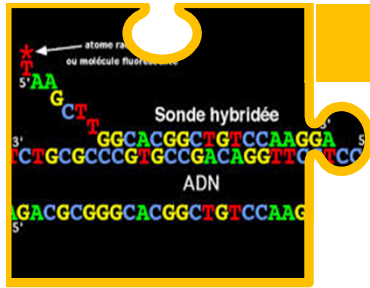
Flea1	SAY 53	Niger	Rattus rattus
Flea2	BOU 76	Niger	Mastomys natalensis
Flea3	MPA 1	Niger	Mastomys natalensis
Flea4	MPA 1	Niger	Mastomys natalensis
Flea5	ZAR 9	Nigéria	Arvicanthis niloticus
Flea6	ZAR 9	Nigéria	Arvicanthis niloticus
Flea7	NIA 352	Niger	Taterillus gracilis
Flea8	NIA 352	Niger	Taterillus gracilis
Flea9	NIA 42	Niger	Cricetomys gambianus
Flea10	NIA 42	Niger	Cricetomys gambianus
Flea11	NIA 42	Niger	Cricetomys gambianus
Flea12	NIA 42	Niger	Cricetomys gambianus
Flea13	NIA 42	Niger	Cricetomys gambianus
Flea15	Ncha3147	France	Myodes sp.
Flea16	Ncha351	France	Myodes sp.
Flea17	Ncha351	France	Myodes sp.
Flea18	BOU38	Niger	Arvicanthis niloticus
Flea19	BOU13	Niger	Rattus rattus
Flea20	BOU36	Niger	Rattus rattus
Flea21	BOU36	Niger	Rattus rattus
Flea22	BOU36	Niger	Rattus rattus
Flea23	BOU39	Niger	Mastomys natalensis
Flea24	CB3624	Sénégal	Rattus rattus
Flea25	CB3666	Sénégal	Mastomys erythroleucus
Flea26	CB3751	Sénégal	Mastomys erythroleucus
Flea27	CB3724	Sénégal	Praomys daltoni
Flea28	CB3700	Sénégal	Rattus rattus
Flea29	CB3245	Sénégal	Praomys daltoni
Flea30	CB3703	Sénégal	Crocidura
Flea31	CB3748	Sénégal	Rattus rattus
Flea32	CB3263	Sénégal	Praomys daltoni
Flea33	CB3733	Sénégal	Praomys daltoni
Flea34	CB3623	Sénégal	Crocidura
Flea35	CB3600	Sénégal	Mus musculus
Flea36	CB3626	Sénégal	Arvicanthis niloticus
Flea37	CB3691	Sénégal	Arvicanthis niloticus
Flea38	CB3749	Sénégal	Mastomys erythroleucus
Flea39	CB3665	Sénégal	Rattus rattus
Flea40	CB3750	Sénégal	Arvicanthis niloticus
Flea41	CB3597	Sénégal	Crocidura
Flea42	CB3673	Sénégal	Mus musculus
Flea43	CB3248	Sénégal	Mastomys erythroleucus
Flea44	CB3734	Sénégal	Rattus rattus
Flea45	G72	?	?
Flea46	G80	?	?
Flea47	G81	?	?
Flea48	Masto 18	Afrique du Sud	Mastomys sp.
Flea49	Masto 44	Afrique du Sud	Mastomys sp.
Flea50	Tatera 35	Afrique du Sud	Taterillus sp.
Flea51	Rhabdo 933	Afrique du Sud	Rhabdomys sp.
Flea52	Rhabdo 270	Afrique du Sud	Rhabdomys sp.

\* 51 individus

\* Origine: Niger, Nigéria, Sénégal, Afrique du Sud, Afrique de l'Est ?, France

\* Hôtes variés et répétés dans différentes localités

## Outil moléculaire



### Etape 1: obtenir les séquences

- \* Le barcoding insecte se fait sur le gène COI (peu de données pour les puces)
- \* Plusieurs amorces testées (Lco/Hco; LepF/LepR, cff-cff-R)
  - Echec d'amplification ou amplification que de certaines espèces
  - Doute sur la qualité de l'extraction
  - Confirmation COI difficile par équipe Institut Pasteur Madagascar qui ont abandonné ce gène au profit du COII

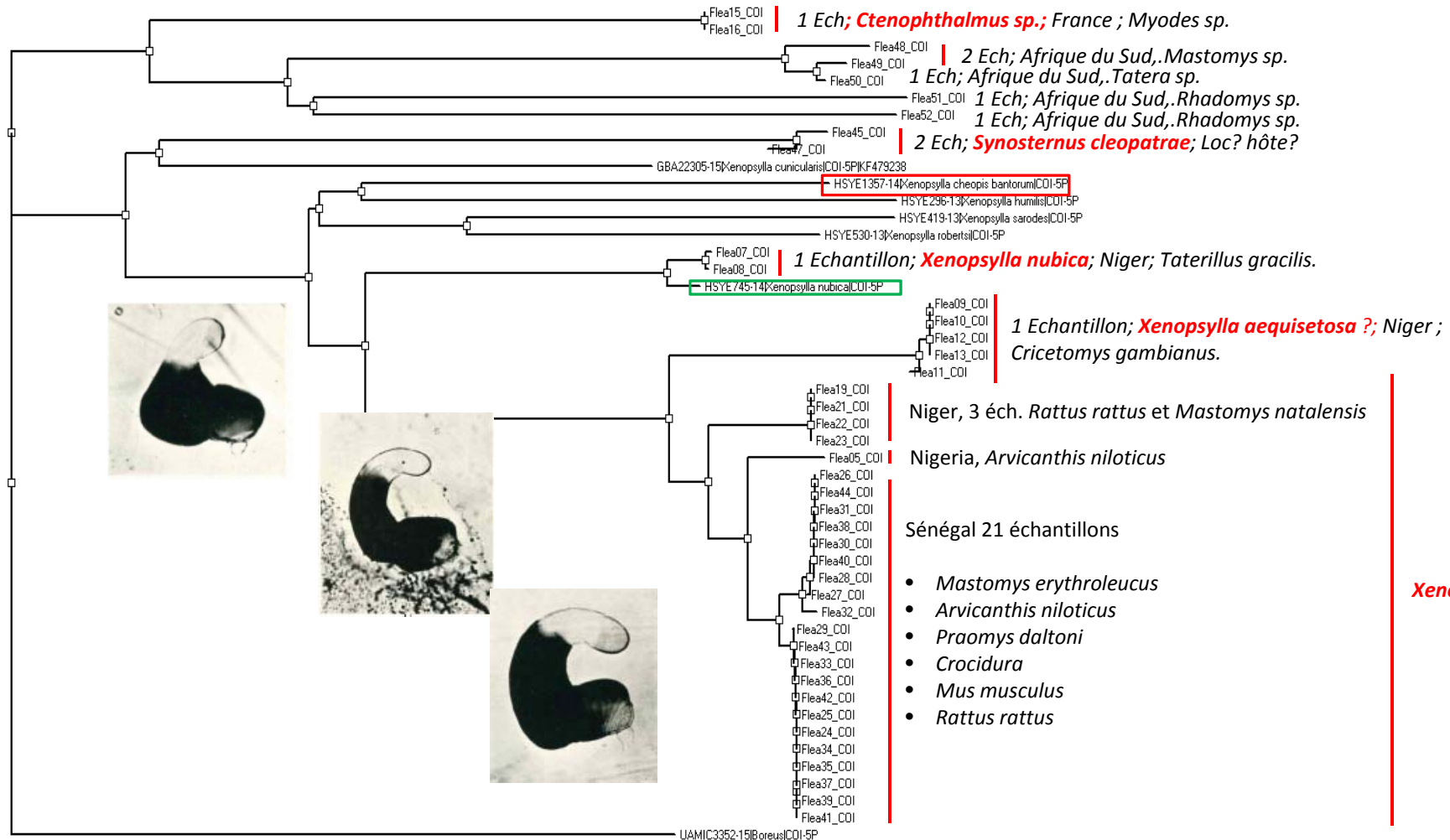
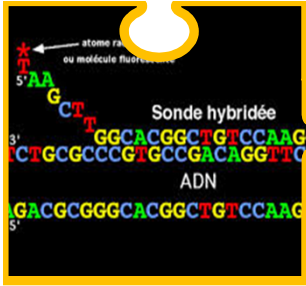
Solution trouvée: Cocktail d'amorces avec queue M13 de séquençage utilisée au CBGP pour barcoding insecte

- Amplification et séquence OK
- Cerise sur le gâteau: testé sur les pucerons qu'il amplifie aussi -> peut travailler sur des lots Puces et Pucerons mélangés.

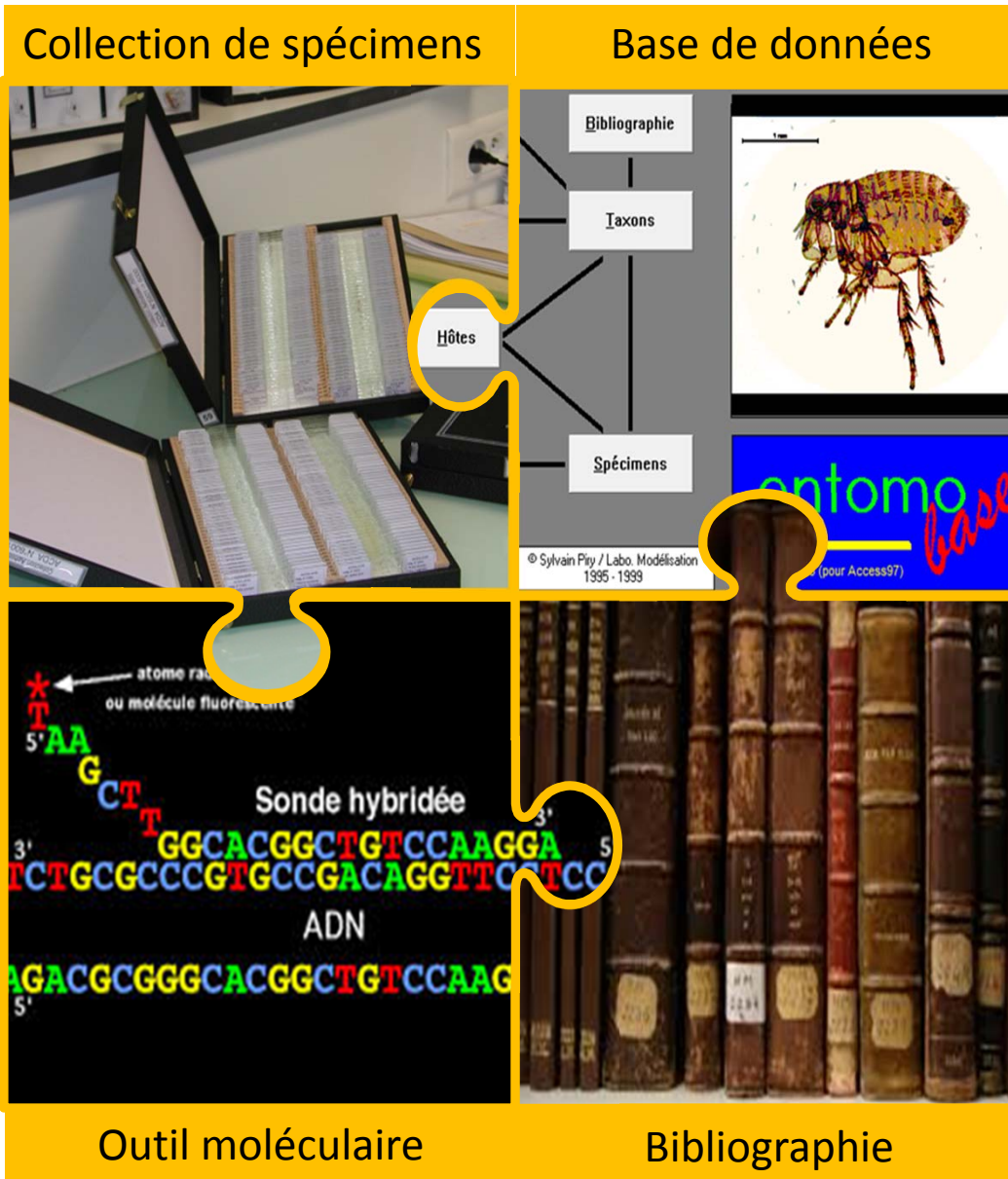
# Outil moléculaire

Etape 2: Vérifier que la variabilité du gène COI permet l'assignation à l'espèce

Résultats très préliminaires !

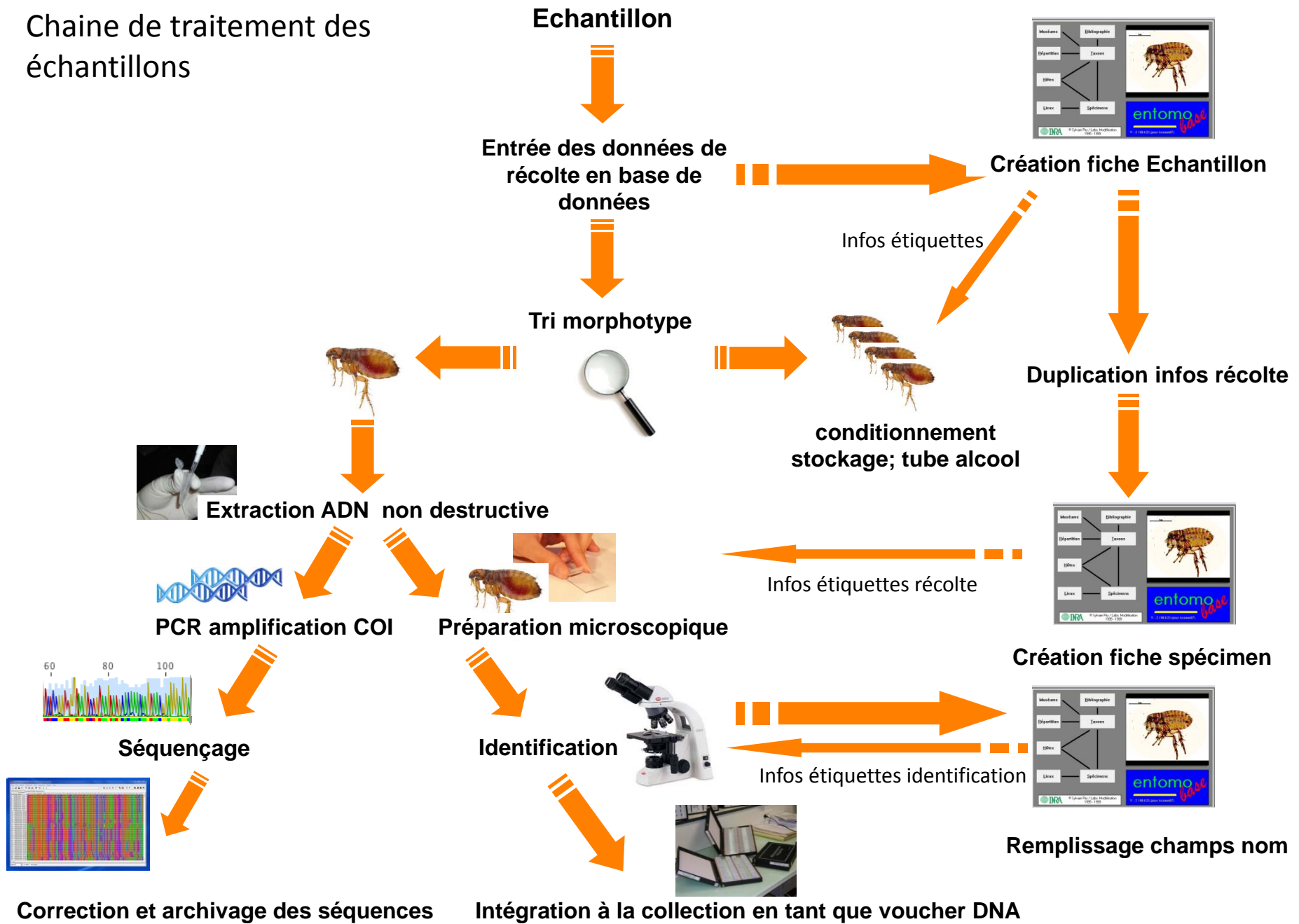


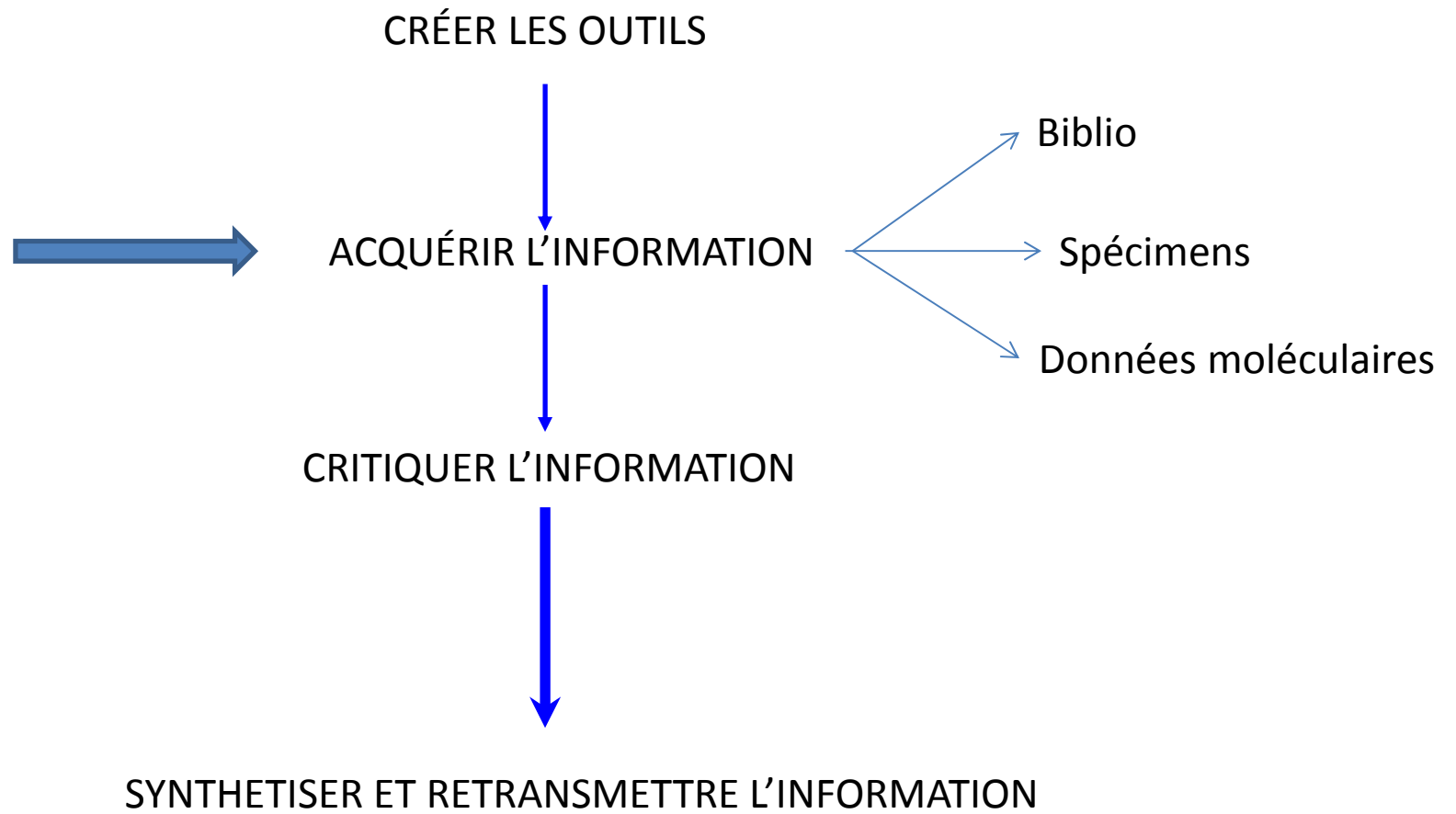
# CRÉER LES OUTILS





# Chaine de traitement des échantillons





Suite....

- \* Spécimens -> Activer les réseaux, pour analyse intéressante doit avoir variabilité intra-spécifique (même espèce, zones géographiques éloignées) et interspécifique : si possible *Xenopsylla* mais intéressée par tout !
- \* Bibliographie -> Continuer à accumuler des références et analyse sélective (Priorité *Xenopsylla* et puces Afrique de l'Ouest)
- \* Identifier les échantillons sur les projets pour lesquels il y a une demande [Pour l'instant Puce /Rongeurs/Afrique de l'ouest]
- \* Tester d'autres gènes (notamment gènes nucléaires) pour barcoding mais aussi pour futures études phylogénétiques
- \* Identifier d'autres groupes d'intérêt que *Xenopsylla*
- \* Trouver une source de financement.....

Suite fin 2016 !