

# Biodiversité, Taxonomie et Barcode moléculaire



Nicolas Puillandre  
puillandre@mnhn.fr



□ Biodiversité :

- les écosystèmes
- les espèces
- les gènes

□ Taxonomie :

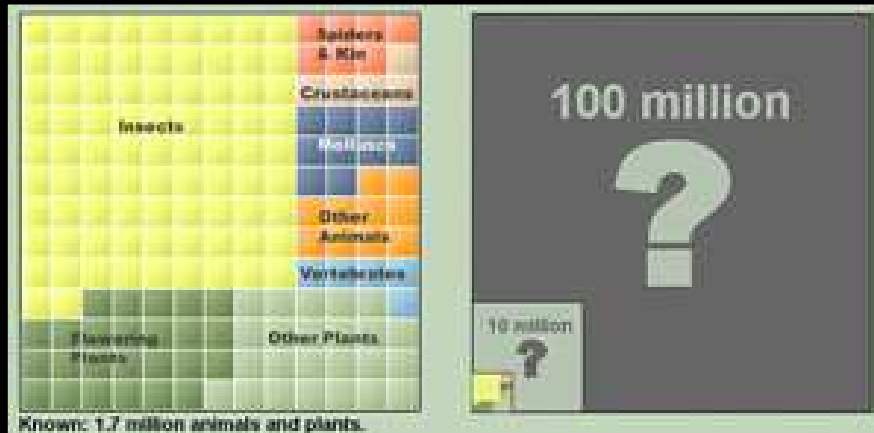
Description des unités taxonomiques  
Classification

□ Barcode moléculaire :

Identification de spécimens par une séquence d'ADN



# CRISE DE LA BIODIVERSITE



*"Whereas physicists deal with a cosmos assembled from 12 fundamental particles, biologists confront a planet populated by millions of species."*

*Hebert 2003 PROC*

- 1,7 millions d'espèces décrites
- nombre d'espèces d'eucaryotes : 10-100 millions.
- environ 6700 espèces décrites par an

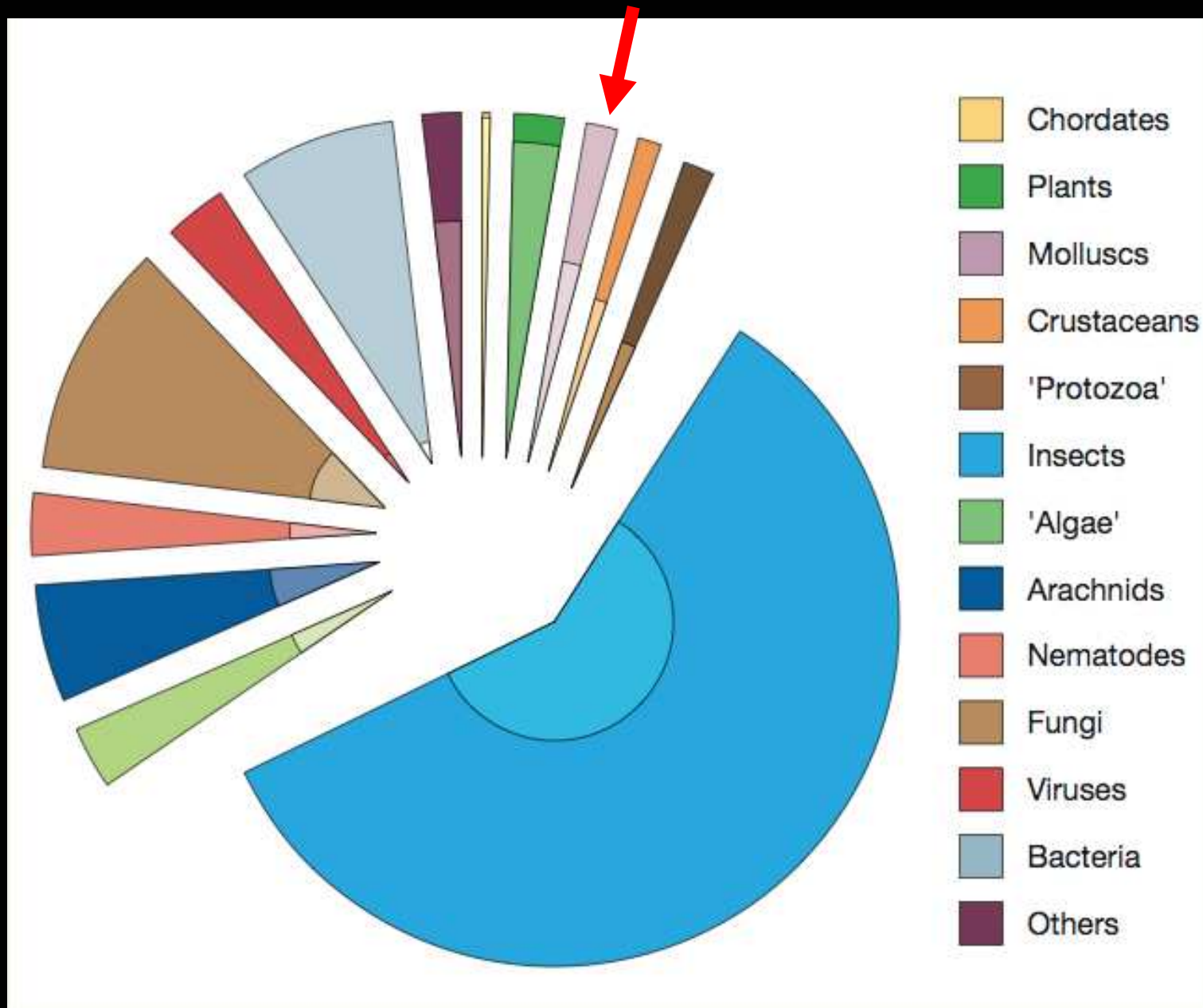


1,500 et 15,000 ans pour inventorier la biodiversité

## CRISE DE LA TAXONOMIE

Peu de spécialistes (indispensables à la taxonomie traditionnelle)

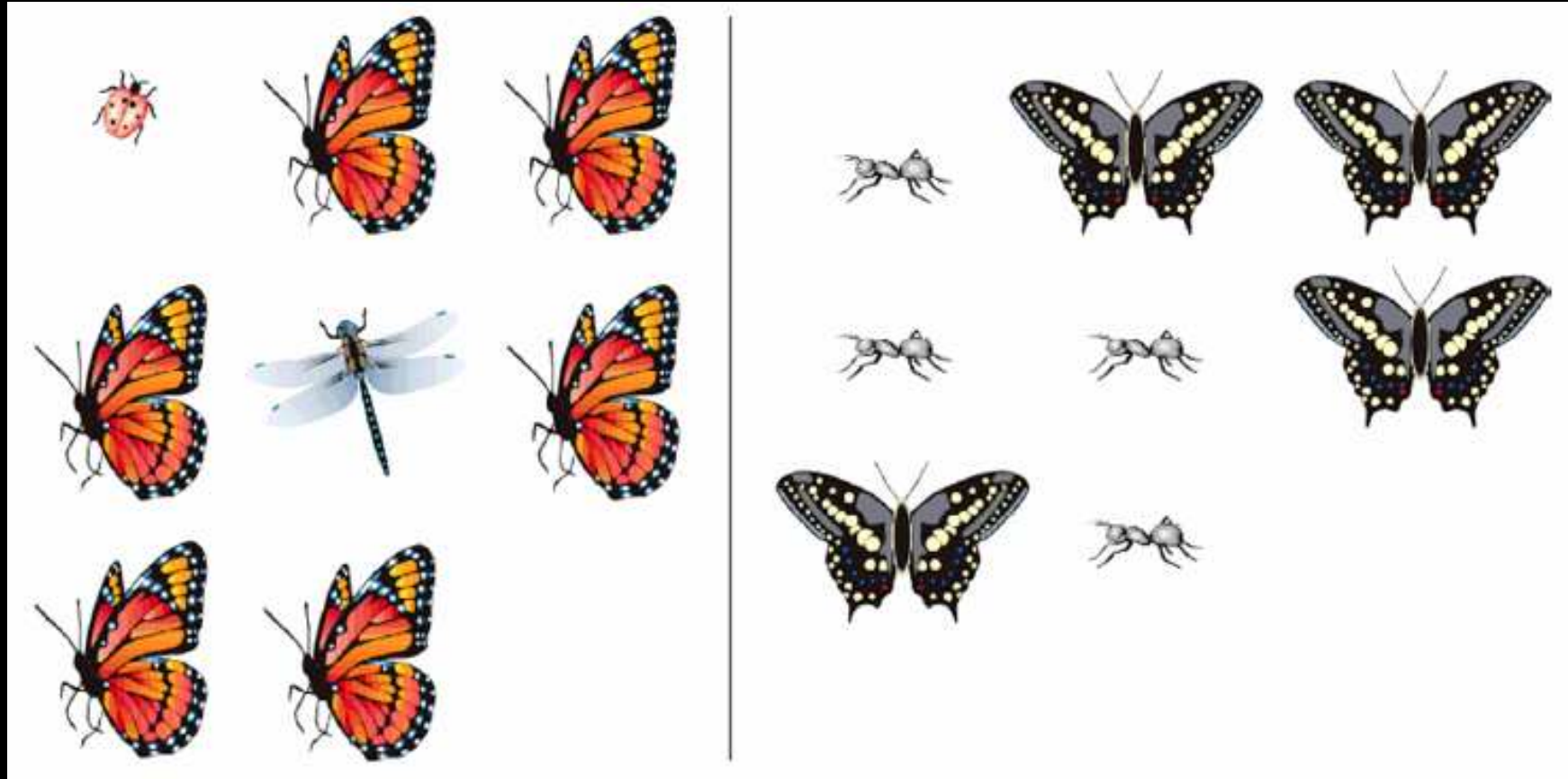
# BIAIS TAXONOMIQUE



# BIAIS TAXONOMIQUE

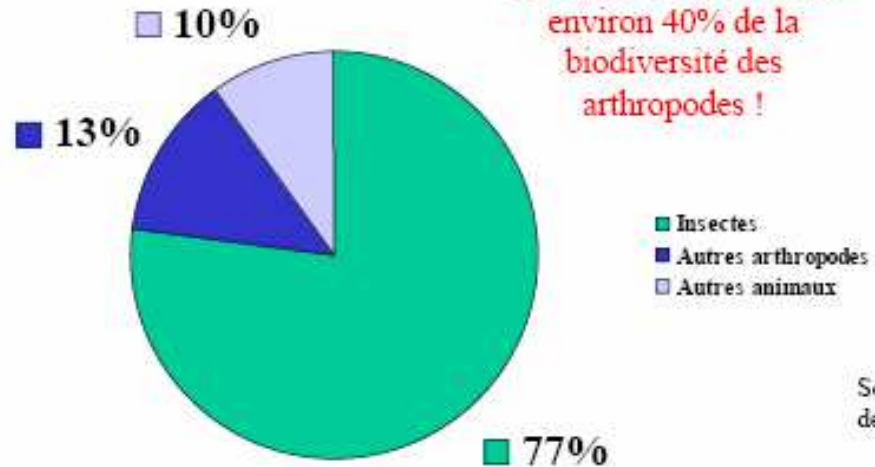
<i>Groupes</i>	<i>Espèces connues</i>	<i>Estimation des espèces existantes</i>	<i>% d'espèces inconnues</i>
<i>Virus</i>	4 000	400 000	99 %
<i>bactéries</i>	4 000	1 000 000	99 %
<i>algues</i>	40 000	400 000	90 %
<i>plantes</i>	270 000	320 000	15 %
<i>protozoaires</i>	40 000	200 000	80 %
<i>Autres invertébrés</i>	90 000	750 000	88 %
<i>mollusques</i>	100 000	200 000	50 %
<i>insectes</i>	950 000	8 000 000	88 %
<i>poissons</i>	23 250	25 000	93 %
<i>amphibiens</i>	5 000	6 000	17 %
<i>reptiles</i>	7 400	8 000	8 %
<i>oiseaux</i>	9 900	10 000	1 %
<i>mammifères</i>	4 600	5 000	8 %

# ESTIMATION DE LA BIODIVERSITE



# ESTIMATION DE LA BIODIVERSITE

## Composition de la faune (en pourcentages)

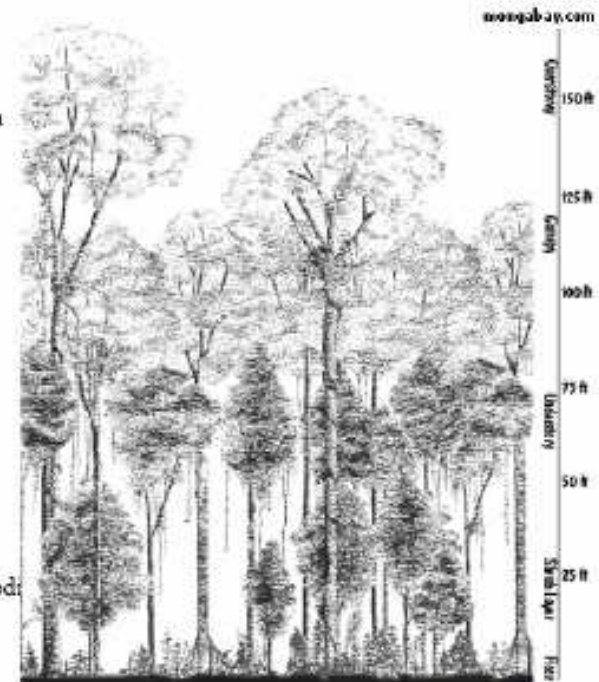


On estime que les coléoptères représentent environ 40% de la biodiversité des arthropodes !

Canopée : représente 2/3 de la biodiversité des coléoptères



Sol : représente 1/3 de la biodiversité des coléoptères



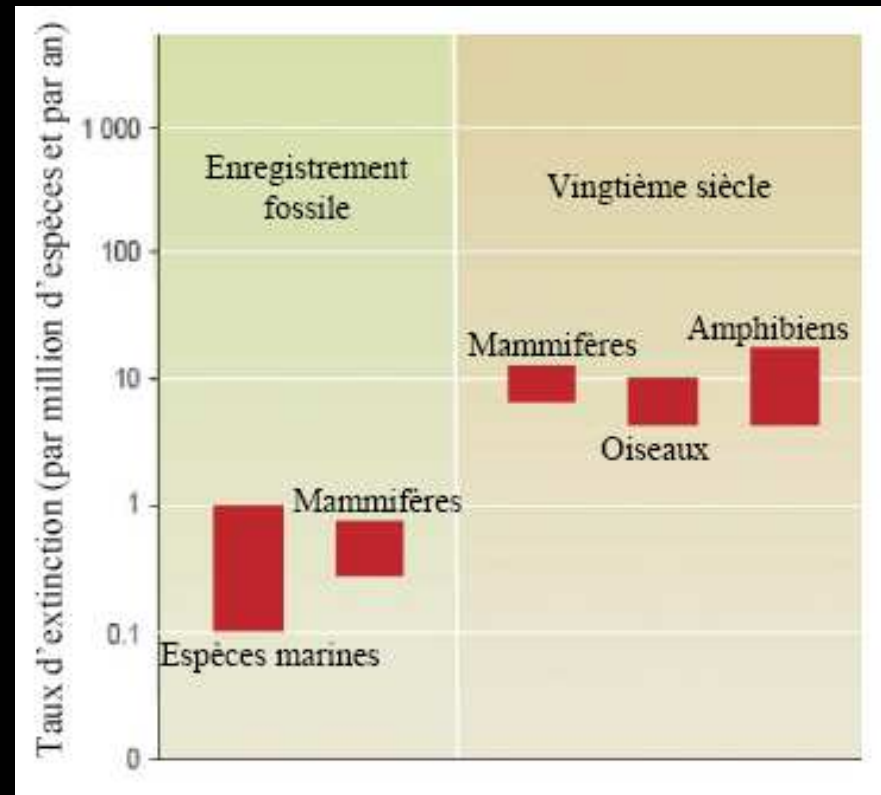
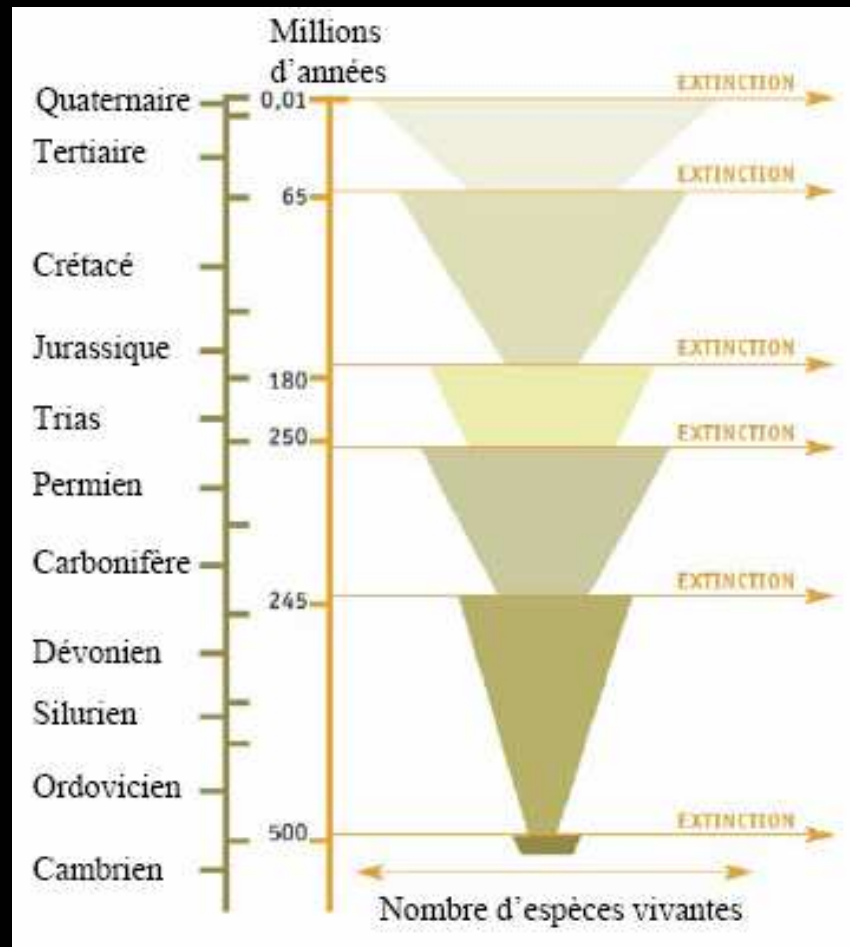
Erwin (1982) recense 1200 espèces de coléoptères dans la canopée de l'espèce d'arbre *Luehea seemannii*. Il estime qu'environ 163 de ces espèces sont spécifiques de leur hôte.

=> en déduire une estimation du nombre d'espèces animales sur Terre



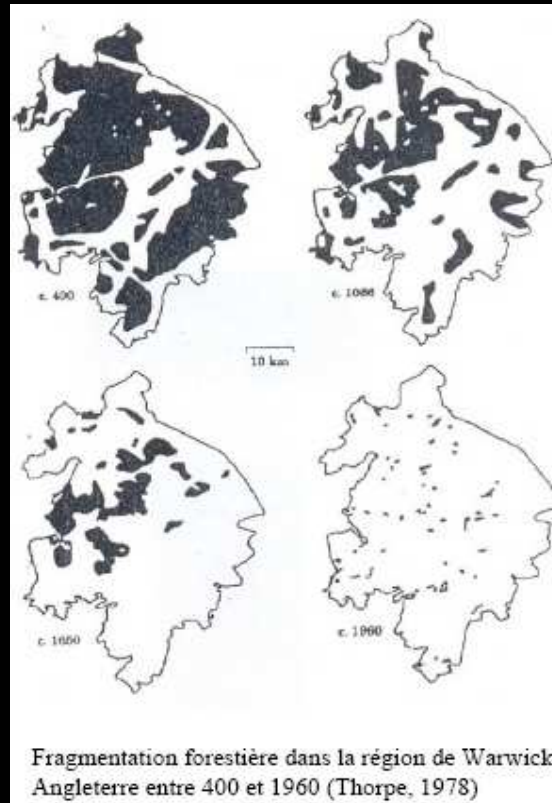
50 000 espèces d'arbres dans les forêts équatoriales mondiales

# BIODIVERSITE EN DANGER





# BIODIVERSITE EN DANGER



Pêche à la dynamite



Marée noire



Viande de brousse (*bushmeat*)

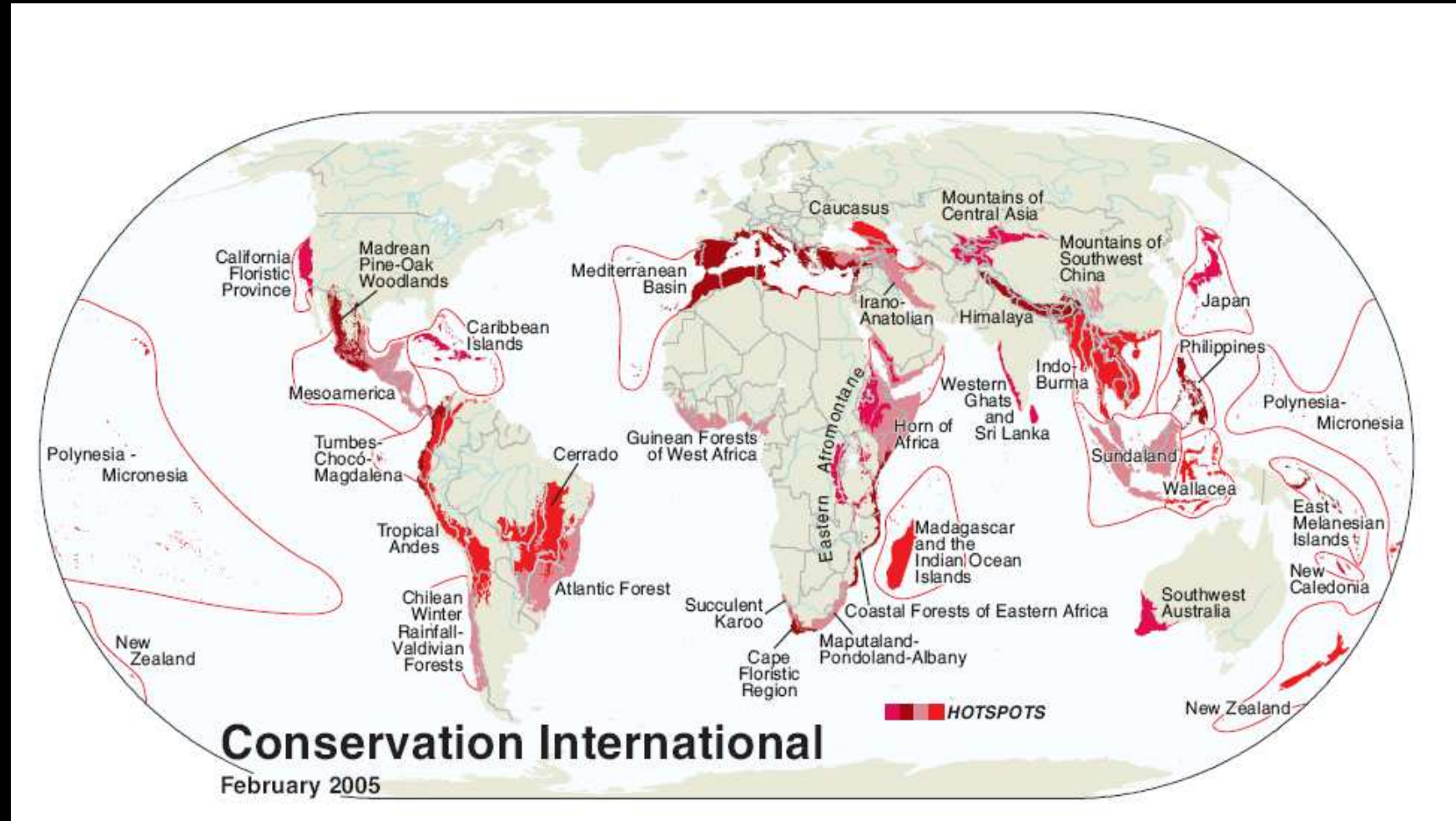


Abattage illégal



*Caulerpa taxifolia* en Méditerranée

# BIODIVERSITE EN DANGER



# UNE SAUVEGARDE INDISPENSABLE

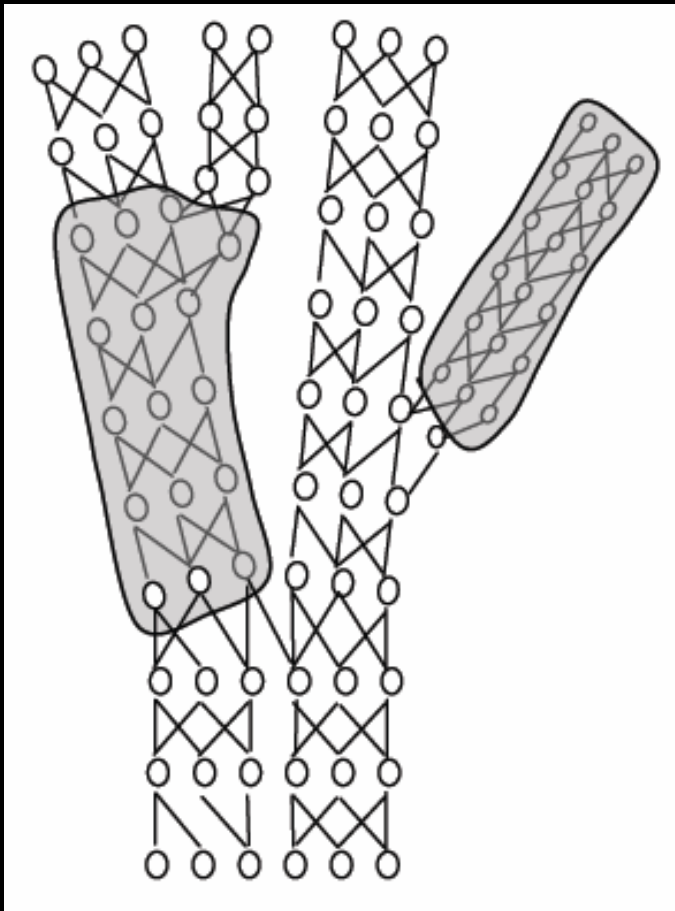
Estimation économique des services rendus par les écosystèmes...

	Valeur (10 <sup>9</sup> \$/an)
Composition atmosphère	1341
Régulation du climat	684
Régulation des perturbations	1779
Fourniture et régulation de l'eau	2807
Formation des sols et contrôle de l'érosion	629
Cycle des nutriments et épuration	19352
Pollinisation et contrôle biologique	534
Rôle refuge et ressources génétiques	203
Valeur récréative et culturelle	3830
Production d'aliments et de matériaux	2107
<b>TOTAL</b>	<b>33266</b>
<b>(Fourchette entre 16000 et 54000)</b>	
<b>Soit 2 X le PNB Mondial (18000)</b>	
Costanza & al., 1997, <i>Nature</i> 387	

Région himalayenne : populations locales d'abeilles éteintes  
Pollinisation à la main : 20 personnes nécessaires pour ~ 100 pommiers, 2 ruches  
suffisaient auparavant...

# L'UNITE DE MESURE DE LA BIODIVERSITE

Hypothèse centrale : les espèces ne sont pas des artefacts des classifications



## DEFINITION :

Lignée évolutive : individus avec relation parents/enfants

Définie soit par un entre-nœud, soit par un nœud et un événement d'extinction

Comment accéder à cette information ?

## CRITERES DE RECONNAISSANCE

### Caractères :

interfécondité  
moléculaires  
morphologiques  
écologiques  
géographiques  
...

### Méthodologie :

Tests de croisement  
OTU  
Morphoespèces  
Arbres, réseaux  
Monophylie  
Isolement génétique  
Distances  
Apomorphie  
...



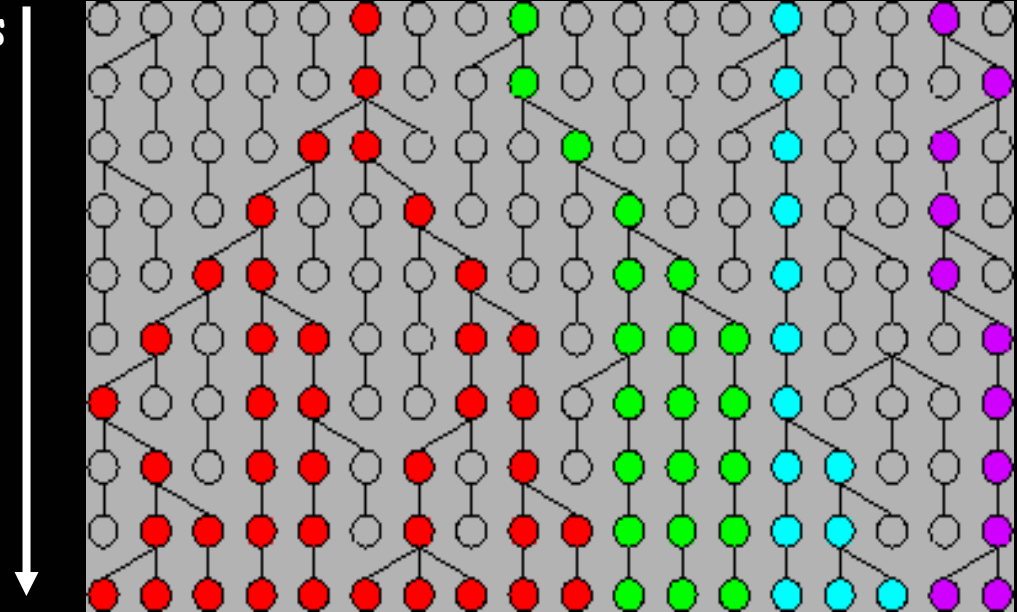
## CRITERE DE RECONNAISSANCE

Problèmes :

- Les caractères utilisés reflètent-ils réellement les limites entre espèces ?

- plasticité
- temps nécessaire à la fixation de différences

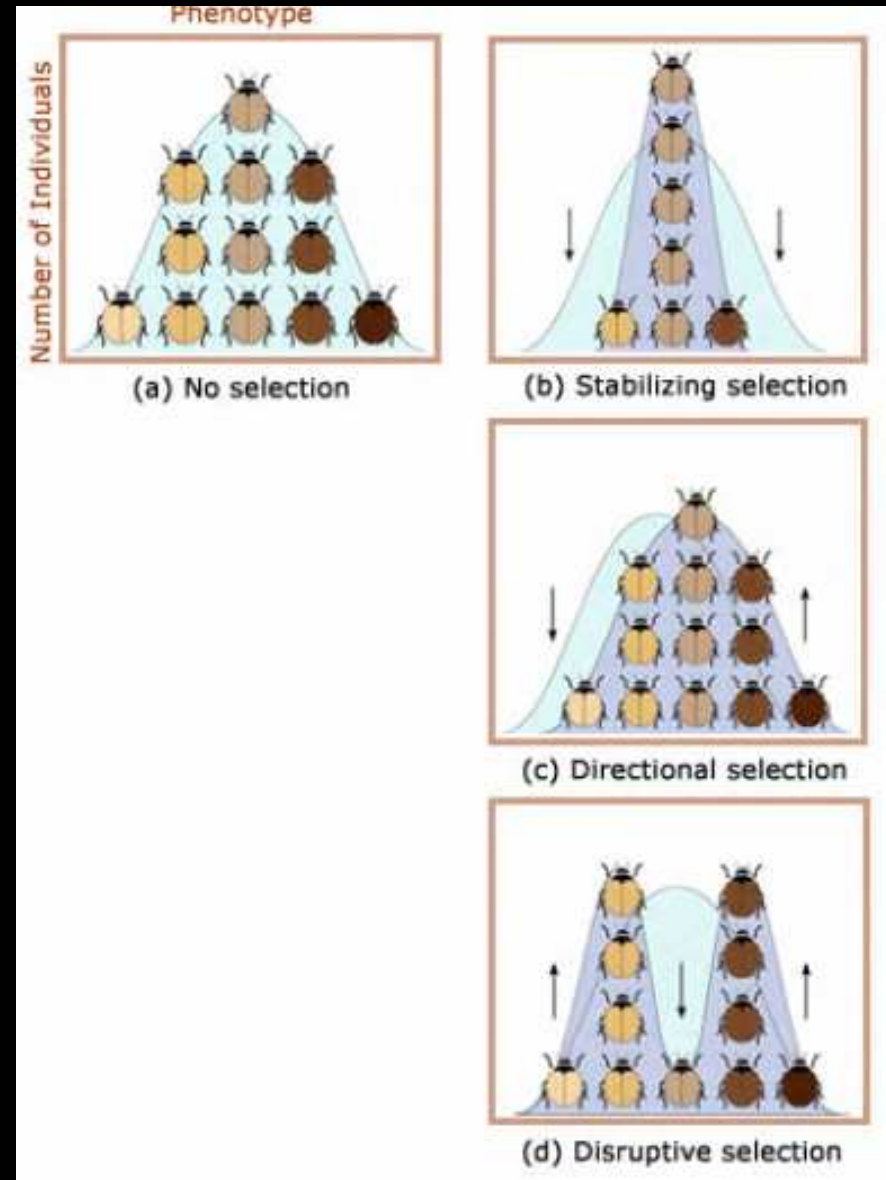
Tps



# CRITERE DE RECONNAISSANCE

Problèmes :

- Les caractères utilisés reflètent-ils réellement les limites entre espèces ?
  - plasticité
  - temps nécessaire à la fixation de différences
  - fixation de caractères au sein d'une lignée





## CRITERE DE RECONNAISSANCE

Problèmes :

- Les caractères utilisés reflètent-ils réellement les limites entre espèces ?
  - plasticité
  - temps nécessaire à la fixation de différences
  - fixation de caractères au sein d'une lignée
- Comment bien évaluer la variabilité au sein d'une espèce ?
  - Choisir les " bons " caractères
  - Echantillonnage " exhaustif "
- Comment formaliser l'analyse des caractères ?

# UTILISATION DE L'INFORMATION MOLECULAIRE

## Eléphants d'Afrique (Roca *et al.*, 2001)

### DNA Tests Show African Elephants Are Two Species

Hillary Mayell

for National Geographic News



August 24, 2001

Genetic fingerprinting shows that Africa's forest and savanna elephants are as different from one another as lions and tigers and should be considered as two genetically distinct species, an international group of researchers reports.

Hebert (2003) :

 THE ROYAL  
SOCIETY

FirstCite®  
e-publishing

Received 29 July 2002  
Accepted 30 September 2002  
Published online

### Biological identifications through DNA barcodes

Paul D. N. Hebert\*, Alina Cywinska, Shelley L. Ball  
and Jeremy R. deWaard

# INTERETS D'UN BARCODE ADN

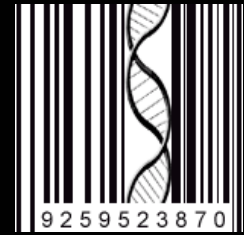
- Méthode standardisée pour fournir un outil supplémentaire pour les taxonomistes
- Ne nécessite pas de connaissances approfondies du taxon (information indépendante du taxonomiste)
- Méthode relativement rapide pour répondre à la demande d'expertise en biologie de la conservation, agriculture, santé publique, environnement, agronomie,...
- Assignation d'un individu quelque soit :
  - son stade de développement (larves, graines, juvéniles,...
  - son état de conservation
  - le matériel disponible



# DEMANDE D'EXPERTISE EN TAXONOMIE

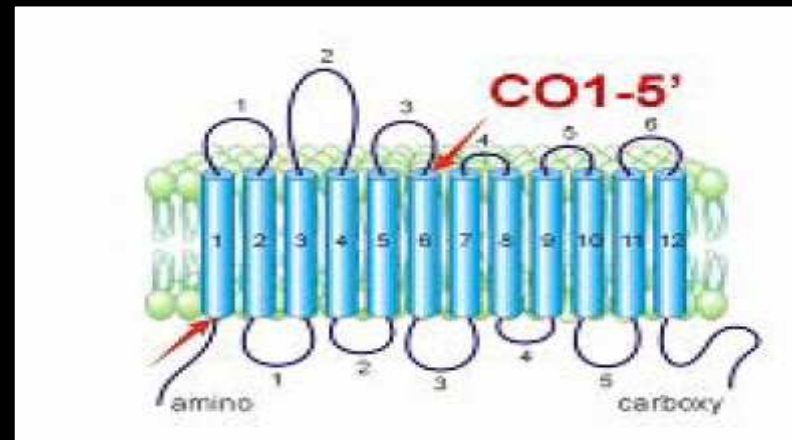
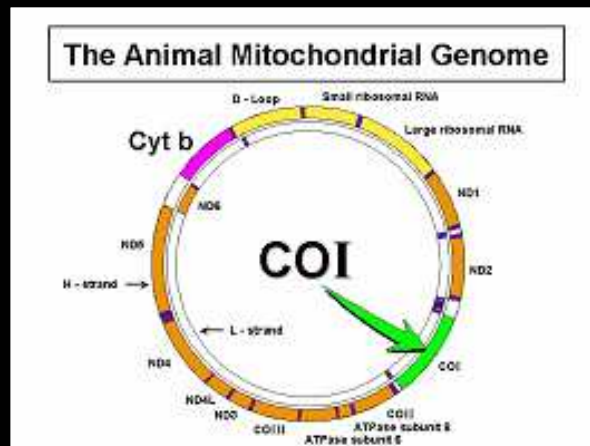
- **biologie de la conservation** :  
reconnaître les espèces en danger ou protégées  
Lutter contre les espèces invasives
- **agriculture** : identifier les espèces nuisibles pour mieux lutter
- **santé publique** : lutter contre les vecteurs des espèces pathogènes et les pathogènes eux-même
- **environnement** : suivre des espèces indicatrices de la qualité de l'environnement
- **agronomie** : vérifier l'identité des espèces exploitées (ex: pêche)
- Etc....

# LE BARCODE COI



- Peu ou pas de variabilité intraspécifique
- Forte variabilité interspécifique
- Longueur de 600pb

Avec un taux de 2% par million d'années, deux séquences de 600pb qui ont évoluées indépendamment depuis un million d'années auront donc en *moyenne* 12 nucléotides de différence



## Intérêts techniques :

- Amorces universelles
- Beaucoup de copies par cellule
- Gène haploïde (non-recombinant)

# METHODOLOGIE : BASE DE DONNEES

1. Séquençage d'un grand nombre d'individus
2. Calcul des distances entre chaque séquence

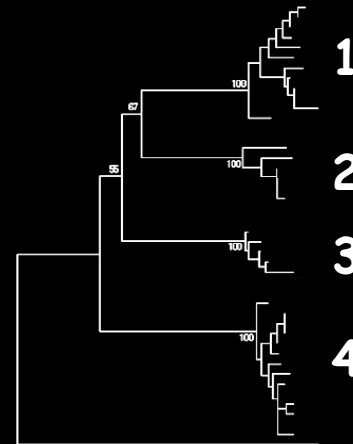
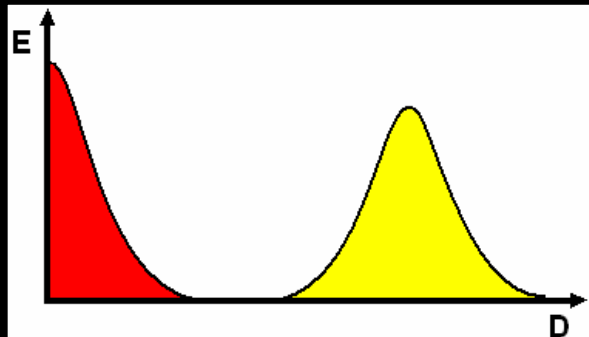


<http://www.megasoftware.net/>



	a	b	c	.....
a	0			
b	0.12	0		
c	0.02	0.13	0	
.....				

3. Comparaison des variabilités intra et interspécifique



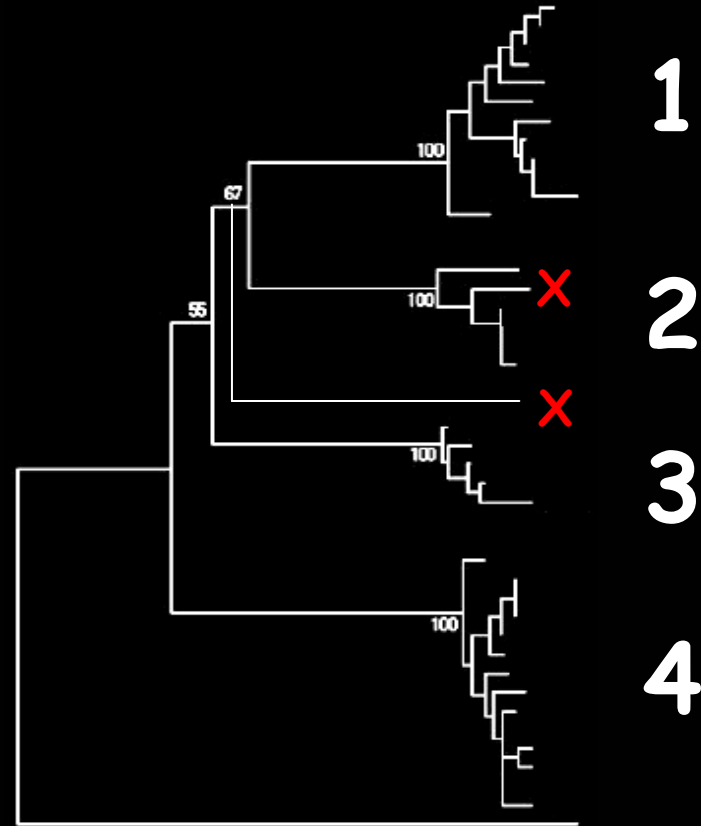
# METHODOLOGIE : TEST DE LA BDD



Individu x

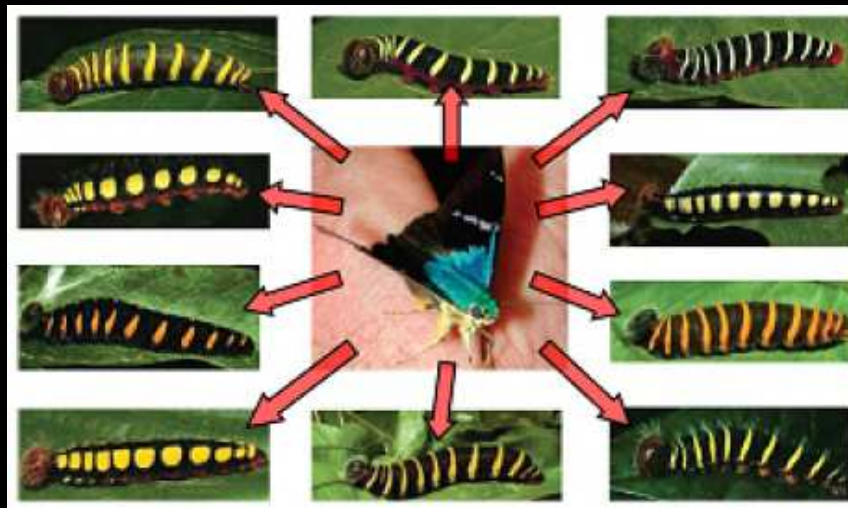


Espèce 2



# EXEMPLE DE TEST DU BC ADN

- Hebert *et al.* (2003) ont comparé 13000 paires de séquences provenant de 2238 espèces animales (447 genres, 11 phyla)
  - 80% des paires ont plus de 8% de différences
  - 98% ont plus de 2% de différences
  - Comparaisons intra-spécifiques : en moyenne 0.3% de différences
- Hebert *et al.* (2004) : " 10 species in one "



*Astraptes fulgerator*

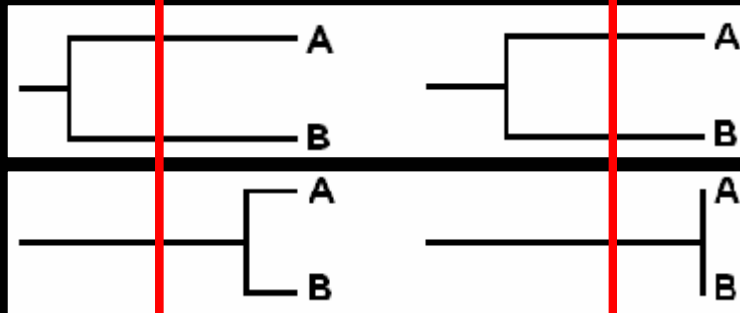
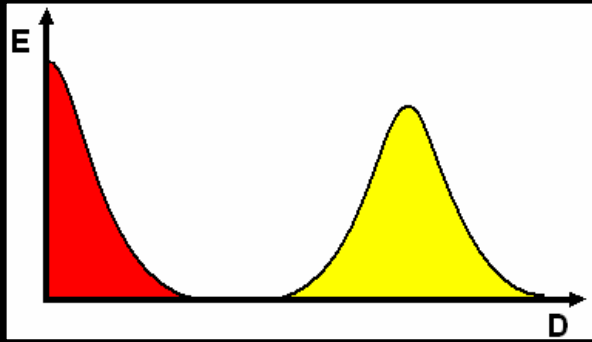
**Mais ... Brower et al., 2006**

**Entre 3 et 7 espèces !**

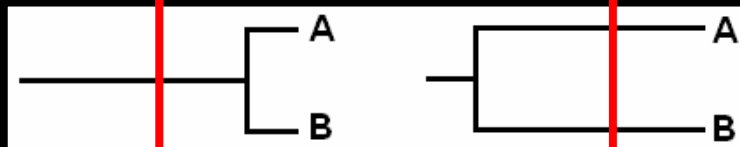
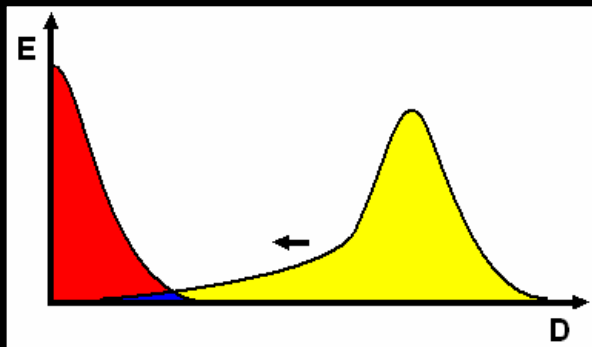


MOTUs

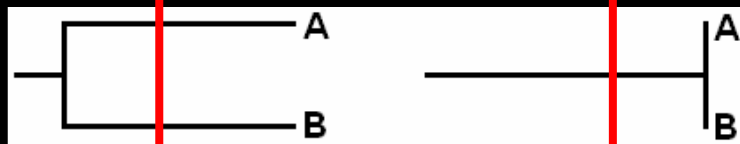
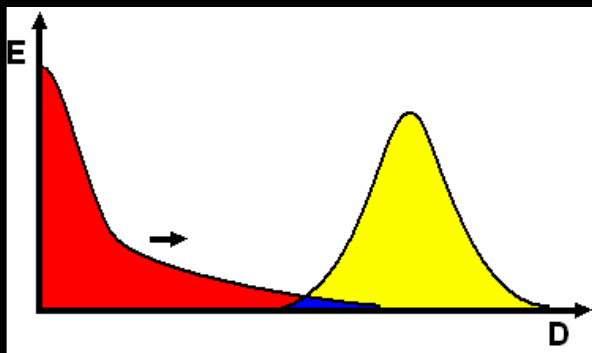
Espèces décrites



CONGRUENCE

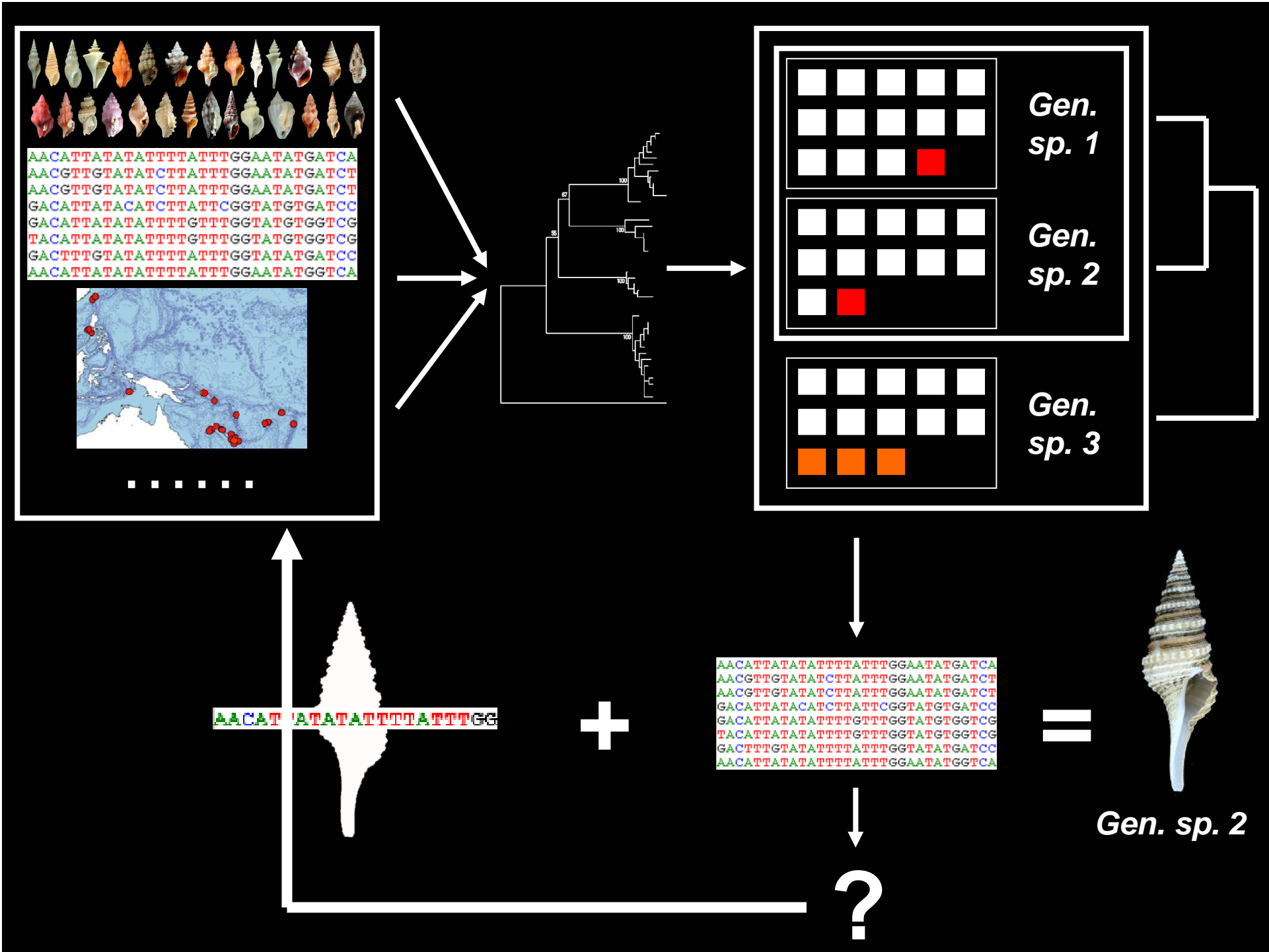


SP RECENTES  
HYBRIDATION



SP CRYPTIQUES  
VARIANTS

SEUIL ???



# BARCODE OF LIFE DATA SYSTEMS

Advancing species identification and discovery through the analysis of short, standardized gene regions

 **SEARCH**
[About BOLD](#) [Contact Us](#)


[Published Projects](#) | [Identify Specimen](#) | [Taxonomy Browser](#) | [Request an Account](#) | [Introductory Tutorial](#) | [Documentation](#) | [Citation](#)

The Barcode of Life Data Systems (BOLD) is an online workbench that aids collection, management, analysis, and use of DNA barcodes. It consists of 3 components (MAS, IDS, and ECS) that each address the needs of various groups in the barcoding community.



## MANAGEMENT & ANALYSIS

**BOLD-MAS** provides a repository for barcode records coupled with analytical tools. It serves as an online workbench for the DNA barcode community.

Username

Password

[Request a new user account](#)



## IDENTIFICATION ENGINE

**BOLD-IDS** provides a species identification tool that accepts DNA sequences from the barcode region and returns a taxonomic assignment to the species level when possible.



## EXTERNAL CONNECTIVITY

### BARCODE COUNTS

<b>Species Barcoded</b>	<b>26,618</b>
<b>Total Barcode Records</b>	<b>224,955</b>
<b>Source</b>	<b>Breakdown</b>
GenBank	41,451
Canadian Centre	171,480
Others	12,024

### SYSTEM UPDATES

#### Mar-2--2007 - Sequence Quality Measure (MAS)

Bold now provides the number of ambiguous bases in a sequences wherever the sequence length is displayed. Sequences with greater than 1% ambiguous bases are highlighted for review. The Taxon ID tree function also provides a filter to restrict any sequences with greater than 1% ambiguous bases from the analysis.

#### Feb-12-2007 - Taxonomy Browser

A Taxonomy Browser is now available off the front page of BOLD. Users can browse and search for taxon pages that provide an overview of the barcoding work thats being done in each group. Each taxon page displays stats on barcoding progress, specimen depositories, representative images of specimens, countries of collection, and a distribution map of collection sites.

#### Jan-25-2007 - BOLD manuscript in press

**BOLD: The Barcode of Life Data System** was recently published in Molecular Ecology Notes. The article outlines BOLD functionality and provides an introductory overview of the data structures and standards implemented by the system.

#### Aug-1-2006 - Tree Export to Mousik (MAS)

Terminé

**BOLDSYSTEMS** | Management & Analysis



- Project Options**
- Merge Projects
  - Search All Records

- Campaigns**
- ACG Parasitoids
  - All Birds Barcoding Initiative
  - Barcoding Fish (FishBOL)
  - Fungal Barcoding
  - Genbank Animals (COI)
  - GenBank Fungi (COI)
  - General Projects
  - Lepidoptera of Eastern North America
  - Lepidoptera of the ACG

Code	ACG Parasitoids	Sequences	Specimens	Species	Species with Seq	Pub
<input type="checkbox"/> HCIC	ACG Belvosia	736	736	34	34	✓
<input type="checkbox"/> ASMIN	ACG Braconidae - minimalist barcode	22	22	15	15	✓
<input type="checkbox"/> ASTAZ	ACG Generalist Tachinidae	2134	2134	73	73	

Code	All Birds Barcoding Initiative	Sequences	Specimens	Species	Species with Seq	Pub
<input type="checkbox"/> ABNA	Birds of North America - Phase II	2586	2586	657	657	✓
<input type="checkbox"/> TZBNA	Birds of North America	437	437	263	263	✓
<input type="checkbox"/> BNABS	Birds of North America, Feather & wing samples	603	603	157	157	✓
<input type="checkbox"/> BNACA	Birds of North America, Guelph sequences	969	969	353	353	✓
<input type="checkbox"/> BNADU	Birds of North America, SI Duplicates	17	17	13	13	✓
<input type="checkbox"/> BNAUS	Birds of North America, SI sequences	560	560	397	397	✓

Code	Barcoding Fish (FishBOL)	Sequences	Specimens	Species	Species with Seq	Pub
<input type="checkbox"/> AUSA	Fishes of Australia Container Part I	722	722	202	202	✓
<input type="checkbox"/> FOA	Fishes of Australia Part I	654	654	183	183	✓
<input type="checkbox"/> OSSA	Fraction of FOA1 species also common to SA	68	68	19	19	✓

Code	Fungal Barcoding	Sequences	Specimens	Species	Species with Seq	Pub
<input type="checkbox"/> PSP	Penicillium subgenus Penicillium	354	354	70	70	✓

Code	Genbank Animals (COI)	Sequences	Specimens	Species	Species with Seq	Pub
<input type="checkbox"/> GBFCA	GenBank Aegla (Decapoda)	167	167	69	69	

Terminé

### SpHINGIDAE of the ACG 1 [MHASA]

**PROJECT DATA VIEWS**

- View All Records
- Search/Filter

**PROJECT OPTIONS**

- List All Projects

**PUBLICATION**

- Project Summary- Specimens, Localities, and GenBank

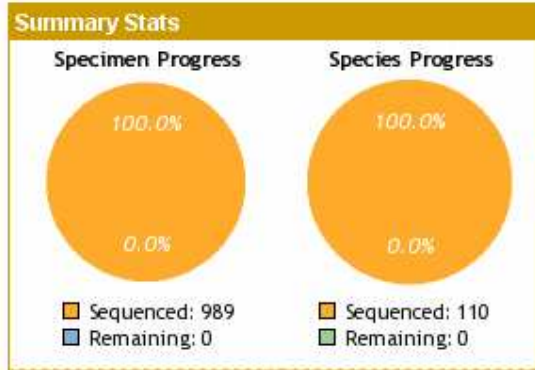
**UPLOADS**

**DOWNLOAD**

- Sequences
- Specimen Sheets
- Specimen Labels
- Trace Files

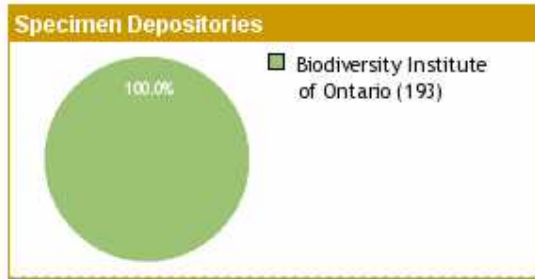
**SEQUENCE ANALYSIS**

- Taxon ID Tree
- Distance Summary
- Sequence Composition
- Nearest Neighbor Summary
- Specimen Age vs Seq Length



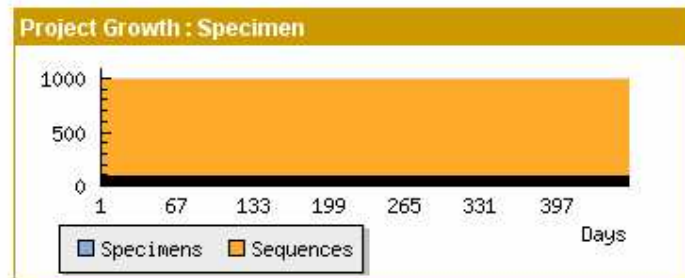
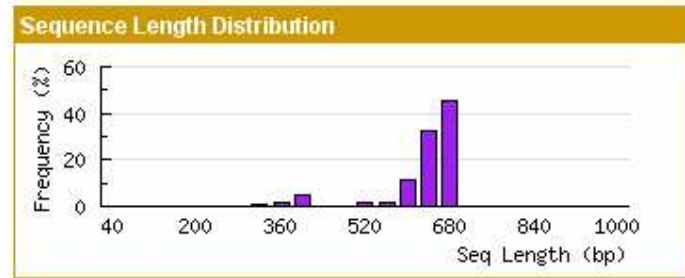
**Data Report**

Specimen records:	989
Lacking geo reference:	4
Lacking photographs :	6
Lacking Traces :	248
Seqs with stop codons :	0



**Published**

Hajibabaei M., Janzen D. H., Burns J. M., Hallwachs W., and . Hebert P. D. N. (2006) DNA barcodes distinguish species of tropical Lepidoptera. PNAS 103, 968-971 (PDF)

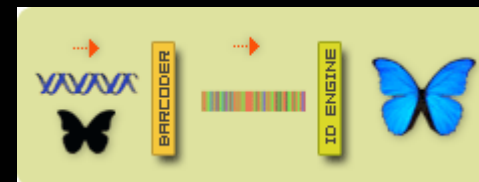


Terminé

<http://www.barcodeoflife.org/>



<http://www.barcodinglife.org/>



<http://barcoding.si.edu/index.htm>

