



https://lib.uliege.be

https://matheo.uliege.be

Mémoire

Auteur: Mullender, Coralie

Promoteur(s): Michaux, Johan; Plumier, Jean-Christophe

Faculté : Faculté des Sciences

Diplôme : Master en biologie des organismes et écologie, à finalité approfondie

Année académique: 2020-2021

URI/URL: http://hdl.handle.net/2268.2/12611

Avertissement à l'attention des usagers :

Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative" (BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.

Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.

Etude du régime alimentaire d'*Eidolon helvum* (Chiroptera ; Pteropodidae) impliqué dans l'écologie des filoviridae (virus d'Ebola et de Marburg)

Mémoire de fin d'étude présenté par **Coralie Mullender** en vue de l'obtention du grade de Master en Biologie des Organismes et Ecologie, à finalité approfondie.

Département de Biologie, Ecologie et Evolution Année académique 2020-2021

Août 2021



Promoteur: Michaux Johan

Laboratoire de génétique de la conservation







Remerciements

Je tiens à remercier l'ensemble des personnes qui m'ont aidé dans la réalisation de ce travail. Tout d'abord, mon promoteur Johan Michaux qui m'a donné l'opportunité de faire une mémoire dans un sujet qui me plaisait. Damien Gailly qui a toujours été présent pour me conseiller et m'aider dans l'achèvement de ce travail, et qui malgré son emploi du temps chargé à toujours trouvé du temps à m'accorder. L'ensemble de l'équipe du laboratoire qui m'a accueillie chaleureusement et m'ont tous aidé de près ou de loin. Je tiens également à remercier mes parents, Sonia Magris et René Mullender, pour leur soutien sans faille. Isabelle Borsus qui n'a pas hésité à me conseiller quand j'en avais besoin. Et enfin, je tiens à remercier Sébastien Mirolo pour m'avoir aidé pour l'orthographe, et qui m'a également soutenue.

Table des matières

Resume	1
1. Introduction	1
1.1. L'origine des zoonoses	1
1.2. Les chauves-souris en tant que vectrices de zoonoses	2
1.3. L'étude du régime alimentaire pour mieux comprendre la transmission des pathogènes entre les espèces animales et l'homme	3
1.4. Objectifs du mémoire	4
2. Présentation de l'espèce	5
3. Contexte épidémiologique de la Guinée	8
4. Matériel et méthode	10
4.1. Matériel	10
4.2. Méthode	11
4.2.1. Manipulations en laboratoire	11
4.2.2. Analyses informatiques	13
5. Résultats	15
5.1. Comparaison de nos séquences avec la base de données publique (UNITE community)	15
5.1.1. Répartition et littérature	15
5.2. Comparaison de nos séquences avec la base de données sélectionnant uniquement des espèces africaines potentiellement consommées par E. helvum.	16
5.2.1. Répartition et littérature	17
5.2.2. Comparaison des résultats obtenus entre les deux bases de données	17
6. Discussion	18
6.1. Comparaison des deux bases de données	18
6.2. Cultures et zones rurales	22
6.3. Littérature	23
6.4. Chlorophyta	25
7. Conclusion	26
Références	27
Annexes	31

Résumé

Etude du régime alimentaire d'*Eidolon helvum* (Chiroptera ; Pteropodidae) impliqué dans l'écologie des filoviridae (virus d'Ebola et de Marburg).

Auteur: Mullender Coralie

Promoteur: Michaux Johan

Doctorant : Gailly Damien

Laboratoire : Génétique de la conservation

L'émergence de nouvelles zoonoses due aux modifications de l'environnement amène à se poser de nouvelles questions sur les moyens de propagation des virus. La transmission virale peut s'étudier de plusieurs façons, par des études épidémiologiques mais également par l'étude de l'écologie des espèces impliquées. Ce mémoire a pour objectif principal de décrire le régime alimentaire de la chauve-souris africaine Eidolon helvum grâce à des analyses de séquençage d'échantillons de fèces, méthode non invasive. Ces analyses sont réalisées par « métabarcoding », approche possible dans les analyses NGS (Next Generation Sequencing). Les fèces proviennent d'individus d'une colonie installée à Conakry, capitale de Guinée en Afrique de l'Ouest. L'objectif secondaire est d'établir si certaines espèces constituant le régime alimentaire d'Eidolon helvum sont des espèces cultivées par les populations humaines de Conakry ou se situent dans des zones urbaines. Ces espèces peuvent créer des zones de contact entre les chauves-souris et l'homme, et entrainer de potentielles contaminations au virus Ebola de la famille des Filoviridae. Au terme de ce mémoire, de nombreuses espèces et genres de plantes ont été confirmées pour le régime alimentaire d'E. helvum. Nous avons également confirmé notre hypothèse concernant la présence d'éventuels points de contact entre l'homme et la chauves-souris dans les lieux cultivés. Des espèces de plantes typiques des mangroves et de marécages ont également été identifiées, suggérant une mobilité importante de cette espèce de chauves-souris pour se nourrir et l'utilisation de tels milieux par régime alimentaire.

Mots-clés:

Chauves-souris, *Eidolon helvum*, régime alimentaire, culture, mangroves, zoonoses, Filoviridae et Ebola

Abstract

The emergence of new zoonoses due to environmental changes raises new questions about the means of virus propagation. Viral transmission can be studied in several ways, by epidemiological studies but also by studying the ecology of the species involved. The main objective of this thesis is to describe the diet of the African bat Eidolon helvum using sequencing analyses of faecal samples, a non-invasive method. These analyses are carried out by "metabarcoding", an approach possible in NGS (Next Generation Sequencing) analyses. The faeces are from individuals from a colony in Conakry, the capital of Guinea in West Africa. The secondary objective is to establish whether some of the species in the diet of Eidolon helvum are species cultivated by the human population of Conakry or are located in urban areas. These species can create contact zones between bats and humans, and lead to potential contamination by the Ebola virus of the Filoviridae family. At the end of this thesis, many plant species and genera were confirmed for the diet of E. helvum. We also confirmed our hypothesis concerning the presence of possible contact points between humans and bats in cultivated areas. Plant species typical of mangroves and swamps were also identified, suggesting a high mobility of this bat species for feeding and the use of such environments for diet.

Keywords:

Bats, Eidolon helvum, diet, crops, mangroves, zoonoses, Filoviridae, and Ebola

1. Introduction

Le monde entier vit actuellement une pandémie sans précédent suite à l'apparition du virus SARS-Cov2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2) responsable de la maladie du Covid-19 qui a radicalement changé nos modes de vies. Les premiers cas officiels de cette maladie remontent à décembre 2019 dans la ville de Wuhan, capitale de Hubei en Chine centrale. Plusieurs hypothèses sur les causes de son apparition existent, dont celle d'une transmission du virus à l'homme par un mammifère (Wu et al., 2020). Les chauves-souris pourraient donc jouer un rôle dans cette pandémie suite à la découverte d'une espèce de coronavirus similaire à 96% à celle du SARS-Cov2 chez Rhinolophus affinis (Chiroptera; Rhinolophidae) (Lu et al., 2020).

C'est dans un contexte de pandémie qui a rendu la thématique des zoonoses visibles aux yeux de tous que je réalise mon mémoire sur le régime alimentaire d'*Eidolon helvum* impliqué dans l'écologie des filoviridae. Les filoviridae, reprenant notamment le virus Ebola, ont également causé de nombreuses épidémies en Afrique.

1.1. L'origine des zoonoses

La sédentarisation de l'homme a été à l'origine de l'apparition de nombreuses maladies contagieuses et la mobilité accrue de ces dernières décennies couplée à l'expansion démographique de la population humaine a augmenté les risques de propagation de ces maladies en revenant à la maison (Jones et al., 2013). De plus, l'homme par ses moyens de subsistance, a augmenté les contacts avec le monde sauvage. Il a de cette façon créé un environnement favorable pour les pathogènes et leur transmission pouvant conduire à des pandémies (Jones et al., 2013). L'émergence des maladies infectieuses est une préoccupation majeure pour l'économie et la santé publique. La majorité de ces maladies proviennent d'animaux (sauvages ou domestiques), ce sont les zoonoses (Jones et al., 2008). Les zoonoses sont responsables d'approximativement 75% des maladies infectieuses chez l'homme (Wolfe et al., 2005). Les cas connus de transmission de pathogènes entre la faune et l'homme à cause d'actions humaines ont été identifiés à de nombreuses reprises, comme le virus de l'immunodéficience humaine (HIV), d'Ebola, du virus de la rage ou encore le virus du syndrome respiratoire aigu sévère (SARS). Tous ces pathogènes ont été transmis à l'homme par un animal sauvage sorti de ses conditions habituelles (Jones et al., 2013). Par ailleurs, il existe une série de maladies transmises à l'homme suite aux modifications de l'habitat et l'expansion des écotones. Dans ce groupe on retrouve la fièvre jaune, la maladie de Lyme, le syndrome pulmonaire de l'hantavirus, la malaria, le virus Nipah, l'influenza, le choléra, la leptospirose ou encore la trypanosomiase (Jones et al., 2013). Les risques de voir apparaître une nouvelle zoonose dépendent de trois facteurs : la diversité des agents pathogènes dans la région, les effets des changements environnementaux sur la prévalence du pathogène et la fréquence des contacts entre les hommes (ou les animaux domestiques) avec les réservoirs naturels du pathogène. Malheureusement, les connaissances scientifiques sur le processus des zoonoses restent faibles (Wolfe et al., 2005).

1.2. Les chauves-souris en tant que vectrices de zoonoses

Les chauves-souris font partie des animaux suspectés d'être le réservoir potentiel ou le réservoir d'une série de virus, tels que le Lyssavirus responsable de la rage, le virus Hendra, le virus Nipah, le virus Ebola ou encore comme dit précédemment le virus SARS-cov2.

Bien qu'elles soient le deuxième groupe de mammifères le plus abondant après les rongeurs, elles ne sont encore que trop peu étudiées (Baker et al., 2013). Leur évolution phylogénétique est étroitement liée à celle de différents pathogènes, comme les Lyssaviruses, les Henipaviruses, les Paramyxoviruses, les Coronavirus, les Filovirus, les Hepacevirus, l'Influenza A virus et le Simplex virus (Brook and Dobson, 2015). Certains virus ayant une origine très ancienne, comme les Henipaviruses et les Lyssaviruses, poussent à croire en une coévolution entre le virus et l'hôte (Calisher et al., 2006). La majorité des zoonoses qui émergent dans la population humaine à partir de chauves-souris sont des maladies à fortes conséquences sanitaires. Les chauves-souris sont capables de porter de nombreux virus sans avoir de symptômes de la maladie associée. Cependant, les connaissances sur l'impact de ces virus sur la fitness sont encore faibles (Brook and Dobson, 2015). La méconnaissance sur l'importance des chauves-souris dans le maintien des écosystèmes. ainsi que les différents mythes les concernant, ont causés dans différentes régions du monde une véritable traque contre ces animaux. C'est par exemple le cas dans les régions touchées par la rage (Australie) qui était en partie véhiculée par les chauves-souris. Cette chasse n'a pour autant eu aucune incidence sur la transmission du virus (Calisher et al., 2006). Un paramètre important dans l'étude des zoonoses provenant des chauves-souris est de comprendre pourquoi les chauves-souris ne montrent que rarement des symptômes cliniques lorsqu'elles sont porteuses du virus. Les chauves-souris sont donc capables de coexister avec une large gamme de virus et de contrôler la réplication virale (Baker et al., 2013).

1.3. L'étude du régime alimentaire pour mieux comprendre la transmission des pathogènes entre les espèces animales et l'homme

Un intérêt accru s'est développé ces dernières années pour les études sur les régimes alimentaires et leurs implications dans les interactions entre individus et espèces. L'étude du régime alimentaire permet de faciliter la compréhension de l'écologie des communautés et des fonctions des écosystèmes dont les relations avec les pathogènes. Une seule modification dans la chaîne alimentaire peut radicalement modifier l'ensemble des interactions qui la composent. La connaissance du régime alimentaire peut donc être utile dans la conservation (Moorhouse-Gann et al., 2018). Il permet ainsi de faire des prédictions dans le futur concernant des changements possibles dans l'écologie et la biologie des animaux dont les chauves-souris et par là, dans le risque de transmission plus important de pathogènes chez les humains (Pompanon et al., 2012). Cette connaissance permet également le développement de stratégies de gestion pour aider par exemple à régler les conflits entre la faune sauvage et l'homme, ou encore dans la gestion de l'habitat (Moorhouse-Gann et al., 2018). Ainsi, un changement d'habitude alimentaire pourra conduire certaines espèces de chauves-souris à se rapprocher des habitations humaines et par là, d'augmenter les interactions avec les humains, augmentant ainsi le risque de transmettre de nouveaux pathogènes à ces derniers. Le régime alimentaire de certaines espèces est soupçonné de faciliter la transmission des virus, c'est notamment le cas pour les chauves-souris frugivores qui laissent des fruits partiellement mangés qui peuvent être contaminés par la salive (Dobson, 2005).

L'augmentation des études sur le régime alimentaire est permise grâce à la nouvelle génération de séquençage (NGS pour Next Generation Sequencing). L'étude du régime alimentaire avant les méthodes moléculaires était fastidieuse, voire impossible. Les méthodes consistaient en une observation directe du nourrissage de l'animal ou en une dissection de l'estomac (Symondson, 2002; Moorhouse-Gann et al., 2018). Malheureusement dans le cadre de régime alimentaire de type frugivore, il est compliqué d'identifier les espèces par identification visuelle du contenu de l'estomac. De plus, cette méthode exigeait de tuer l'animal pour le disséquer. Les NGS permettent des approches non-invasives. L'étude du régime alimentaire se fait sur base de traces d'ADN comme celles présentes dans les fèces (Bohmann et al., 2011) mais également dans le sol, l'eau et le contenu gastrique (Bohmann et al., 2018). Les NGS sont des outils pratiques qui permettant d'étudier le régime alimentaire lorsque l'observation directe est compliquée comme c'est le cas pour les chauves-souris. Les NGS permettent d'augmenter la puissance et de diminuer le coût des

analyses. De plus, il est possible de développer des approches de type « métabarcoding », ce qui permet, pour un échantillon de fèces donné, d'identifier toutes les espèces ayant été ingérées par l'animal et ainsi d'obtenir une approche quasi exhaustive de leur régime alimentaire. Les méthodes de « métabarcoding » couplées au séquençage de nouvelle génération sont actuellement largement utilisées (Moorhouse-Gann et al., 2018). Dans le cadre de ce mémoire, cette approche sera utilisée afin de déterminer le régime alimentaire d'*Eidolon helvum*, et ainsi augmenter nos connaissances sur les potentiels risques de contamination inter espèces.

Le marqueur le plus utilisé dans les études de régime alimentaire est le trnL (UAA) provenant du plaste. Cependant, ce marqueur permet une résolution taxonomique au niveau de l'espèce entre 29,8% et 77%. Un nouveau marqueur est utilisé dans la cadre de ces études, le deuxième espaceur transcrit interne (ITS2) qui provient de l'ADN ribosomal nucléaire. La résolution taxonomique de ce marqueur est d'au moins 86,1% pour l'espèce (Moorhouse-Gann et al., 2018). Malgré, la plus grande performance d'ITS2, des études récentes continuent d'utiliser trnL comme marqueur (par exemple : Ingala et al., 2021). Le principal problème d'ITS2 est le manque de séquences références disponibles pour cette région (Moorhouse-Gann et al., 2018). Cependant, plus les études récentes utiliseront ce marqueur et plus les bases de données ITS2 s'étofferont et permettront des résultats plus fiables et précis. ITS2 sera utilisé dans le cadre de ce mémoire.

1.4. Objectifs du mémoire

L'objectif de ce mémoire sera d'améliorer nos connaissances sur le régime alimentaire d'Eidolon helvum (Kerr, 1792), chauves-souris africaine, appartenant à la famille des Pteropodidae (Fahr et al., 2015), suspectée d'être impliquées dans l'écologie des filoviridae en Afrique. Cette approche permettra également d'identifier les relations avec l'homme sur ces zones de nourrissage en déterminant les espèces de plantes cultivées qui pourraient être un vecteur de transmission de virus suite à leur consommation par des chauves-souris. Cette étude sera développée sur base de fèces collectées sur le terrain, et une étude de type « métabarcoding » basée sur l'analyse de l'ADN concentré dans ces matières fécales.

2. Présentation de l'espèce

E. helvum est une des deux seules espèces (E. helvum et E. dupreanum) qui composent le genre Eidolon unique genre de la sous-famille des Eidolinae (Hassanin et al., 2020). E. helvum est la seconde plus grande chauve-souris du continent africain. Un adulte peut peser entre 250 et 310 grammes et a une envergure moyenne de 80 cm (Richter and Cumming, 2005). Cette chauve-souris africaine a une aire de répartition qui s'étend de l'Afrique de l'Ouest, passant par l'Afrique centrale, jusqu'à l'Afrique du sud (Fig. 1) (Movebank). Les chauves-souris frugivores sont des espèces clés dans le maintien de la biodiversité dans les régions qu'elles fréquentent. E. helvum est une espèce migratrice et, de par ce caractère, est fortement impactée par les changements causés par l'homme.

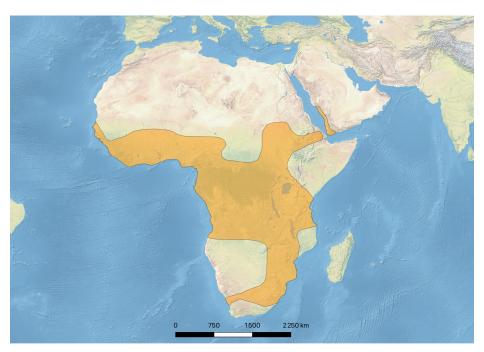


Figure 1. Aire de répartition d'E. helvum

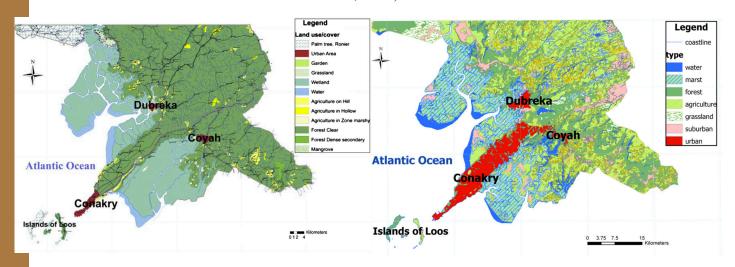
Cette chauve-souris est capable de migrations pouvant faire plus de 2500 kilomètres en 5 mois avec un record de 370 km en une nuit (Richter and Cumming, 2005). Cette grande capacité de migration confère à *E. helvum* un rôle important dans la dispersion des graines des différentes espèces d'arbres dont elle se nourrit (Peel et al., 2017). De nombreuses hypothèses sont émises sur les causes de ces longues migrations mais la plus probable est celle du gradient de nourriture de Lang et Chapin en 1917 (Richter and Cumming, 2005, Peel et al., 2017). *E. helvum* serait un animal

opportuniste qui migre pour prendre l'avantage des variations de disponibilités en nourriture selon les régions (Richter and Cumming, 2005).

Dans certaines régions, les populations d'*E. helvum* sont en forte diminution suite à la perte d'habitat et l'impact de la chasse par l'homme pour la nourriture et pour les croyances médicinales (Perpetra and Kityo., 2009). Elle est maintenant classée en tant qu'espèce quasi-menacée dans la liste rouge de l'ICUN. Selon le même organisme, la population continue de décroître (Cooper-Bohannon et al., 2020). Généralement, *E. helvum* évite les zones où la chasse est tolérée, et favorise les régions sanctuaires. Parallèlement ces régions sont celles qui abritent le plus d'arbres fruitiers (Peel et al., 2017). Dans les zones urbaines où la chasse est interdite (sanctuaires), cette espèce peut se reproduire malgré la forte population humaine. Cependant, une corrélation directe est observée entre la proximité des colonies de chauves-souris et l'homme et les interactions entre les deux espèces. Cette proximité peut être impliquée dans les risques de transmission de zoonoses entre les chauves-souris et les hommes (Peel et al., 2017).

Les échantillons utilisés pour ce mémoire, proviennent de Conakry, la capitale de la Guinée. Conakry est bordée par l'océan Atlantique nord. On y retrouve la baie de Sangaréa. Les alentours de la ville sont principalement des zones de marécages et de mangroves (Fig. 2), zones très humides, et quasi inexploitables par l'homme. Cette région a subi une forte déforestation au cours des 60 dernières années (une diminution de 5,21%) (Sylla et al., 2012) (Fig. 2) et est caractérisée par de fortes densités humaines. En 1976, la population de Conakry était de 4 559 239 habitants. En 2012, elle était passé à 10 652 032 habitants. En 2020, elle avait encore augmenté passant à 13 132 792 habitants. En 60 ans, la population de Conakry a subi une augmentation de 276% (Guay., 2021). Cette explosion démographique peut expliquer l'expansion de la ville de Conakry, ainsi que la déforestation nécessaire à cette expansion. L'expansion de la population peut s'expliquer par un taux de natalité élevé. Le haut taux de migration à cause de la forte attractivité de la capitale (Conakry) explique aussi en partie l'augmentation de la population. En effet, la ville est à proximité des préfectures de Coyah et Dubreka dans lesquelles on observe une forte concentration des principales activités économiques de Guinée (Sylla et al., 2012). Les risques de contacts entre les chauves-souris et les humains, notamment via des fruits souillés lors de l'alimentation d'E. helvum dans les jardins, est ainsi très importante.

Figure 2. Utilisation des sols de Conakry, Coyah et Dubreka en 1952 (à gauche) et 2011 (à droite) (Sylla et al., 2012)



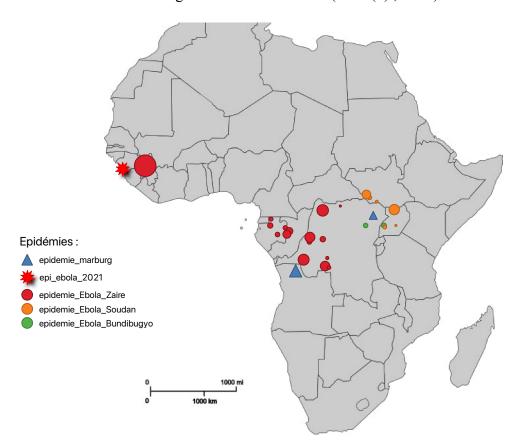
3. Contexte épidémiologique de la Guinée

Les pays d'Afrique sont régulièrement touchés par des épidémies causées par des virus, du genre virus Ebola et virus de Marburg de la famille des filoviridae. Il est donc utile d'accumuler des informations sur l'écologie de ceux-ci et de leurs potentiels vecteurs et réservoirs.

Les filoviridae sont une famille de virus dont certains sont suspectés d'être transmis par les chauves-souris à l'homme (Amman et al., 2017). Les virus provenant de la famille, Ebolavirus et Marburgvirus, ont causé entre 1967 et 2016, 40 épidémies présentant un taux de mortalité chez l'homme variant entre 25 et 90% (Fig. 3) (Amman et al., 2017; OMS(1)., 2018). La majorité des cas d'infection est due à une transmission entre humains. Cependant, le patient zéro est infecté lorsque celui-ci entre en contact avec un réservoir naturel comme la chauve-souris. Les épidémies causées par les filovirus sont sporadiques, apparaissent dans des régions éloignées géographiquement avec des intervalles de temps imprévisibles. L'étude des vecteurs et réservoirs des filovirus est compliquée. En effet, les chauves-souris sont des mammifères volants, elles ne sont donc pas restreintes géographiquement et sont difficiles à capturer (Amman et al., 2017). Depuis quelques années déjà, un vaccin contre la souche Zaïre permet de limiter les infections dans les zones touchées par des épidémies (PassportHealth., 2021).

Entre 2013 et 2016, 11 000 personnes sont mortes suite à une épidémie d'Ebola rien que pour la Guinée (institut pasteur., 2021). Une nouvelle épidémie d'Ebola s'est déclenchée en 2021 en Guinée. Celle-ci a duré 4 mois et a officiellement pris fin le 19 juin 2021, faisant état de 23 cas et 9 décès en Guinée (AFRICA CDC., 2021). Le 9 août 2021, un nouveau cas de contamination au virus de Marburg a été confirmé par l'organisation mondiale de la santé, à Guéckedou ville du sud de la Guinée. Les cas contacts sont sous surveillance pour empêcher une nouvelle flambée de la maladie (OMS(2)., 2021). Le 14 août 2021, un nouveau cas de maladie à virus Ebola a été confirmé à Abidjan en Côte d'Ivoire. Il y a pour l'instant aucune preuve d'un lien entre ce cas et l'épidémie en Guinée (OMS(3)., 2021). Leroy (2009) va être un des rares à décrire un cas d'infection probablement dû à un contact direct entre une chauve-souris infectée et un homme. L'épidémie s'est produite à Luebo en République Démocratique du Congo, où un homme est entré en contact avec la maladie par le sang d'une chauve-souris tuée. Les chauves-souris africaines sont souvent tuées pour leur apport important en protéines. Malheureusement, il est difficile d'empêcher la population d'accéder à une source de viande car généralement celles-ci restent rares (Leroy et al., 2009).

Figure 3. Epidémies africaines Ebola et Marburg, enregistrées de 1976 à 2021 (OMS(1)., 2018)



4. Matériel et méthode

4.1. Matériel

Les échantillons ont été collectés par une équipe basée à Conakry, capitale de la Guinée, dans le cadre du projet européen EBOSURSY avec lequel nous sommes associés. Ce projet a pour objectif d'améliorer le système de détection et de prévention des foyers de la maladie du virus Ebola et de 4 autres fièvres hémorragiques virales (la maladie du virus de Marburg, la fièvre de la vallée du Rift, la fièvre hémorragique de Crimée-Congo et la fièvre de Lassa). La santé pour tous (humains et animaux) est au centre des préoccupations de ce projet. Les actions sont divisées en 3 parties, (1) accroître les capacités par l'enseignement et la formation, (2) sensibiliser les communautés sur les zoonoses et (3) renforcer les protocoles de surveillance des fièvres hémorragiques virales (RR-africa.oie.int., 2021). Cette équipe a récolté les échantillons sur une bâche laissée toute la nuit en dessous d'arbres fréquentés par les chauves-souris. Les fèces ont ensuite été collectées entre 04h45 et 7h30, et conservées par 1,2 ou 3 par tube dans de l'éthanol absolu (>96%). 6 périodes de collecte ont été choisies durant la saison sèche (aucune collecte n'a été faite durant la saison des pluies car *E. helvum* n'est pas présent) : avril 2019, mai 2019, novembre 2019, janvier 2020, février 2020 et avril 2020. L'échantillonnage durant ces différentes périodes a été réalisé au sein de la même colonie située à l'Archevêché de Conakry (9.511008,-13.704790) (Fig. 4).



Figure 4. Lieu de collecte

4.2. Méthode

4.2.1. Manipulations en laboratoire

20 tubes d'échantillons ont été sélectionnés aléatoirement par date, excepté pour la date du 05/04/2019 où seul 14 tubes étaient présents, donnant un total de 115 tubes analysés (tableau récapitulatif en annexe 1). Les échantillons présentant une fèce par tube ont été regroupés afin de diminuer les coûts de manipulation.

L'ADN des 115 échantillons a été extrait à l'aide du kit QIAamp DNA Mini (Qiagen) par un robot QIAcube (Qiagen) dans une salle ADN rare afin de minimiser tout risque de contamination. Le protocole ainsi que le programme d'extraction encodé du QIAcube se trouve en annexe 2.

A partir de l'ADN extrait, les librairies pour séquençage NGS ont été préparées (Fig.5). Leur préparation se déroule en cinq étapes. Tout d'abord, une PCR (PCR1) est réalisée pour l'amplification du fragment d'intérêt ITS2 à l'aide des primers dégénérés UniPlantF et UniplantR (Table 1) auxquels sont ajoutés les adaptateurs (Moorhouse-Gann et al., 2018). Une migration sur gel d'agarose (2%) de produits PCR a été réalisée afin de vérifier si la longueur des fragments amplifiés correspondait à la taille attendue.

Table 1. Adapateurs (en noir) et primers (en rouge)

Taxon	Nom	Type	Séquence 5'-3'	Référence	Bases	Tm
Plantes	UniPlantF_ad	Forward	TCG TCG GCA	228556365	57	69.5°
	apter_5N		GCG TCA GAT			C
			GTG TAT AAG			
			AGA CAG			
			NNN NNT GTG			
			AAT TGC ARR			
			ATY CMG			

Plantes	UniPlantF_ad	Forward	TCG TCG GCA	228556366	58	69.7°
	apter_6N		GCG TCA GAT			C
			GTG TAT AAG			
			AGA CAG			
			NNN NNN TGT			
			GAA TTG CAR			
			TTG CAR RAT			
			YCM			
Plantes	UniPlantR_ad	Revers	GTC TCG TGG	228556367	59	71.5°
	apter_5N		GCT CGG AGA			C
			TGT GTA TAA			
			GAG ACA			
			GNN NNN			
			CCC GHY TGA			
			YYT GRG GTC			
			DC			
Plantes	UniPlantR_ad	Revers	GTC TCG TGG	2285563668	60	71.5°
	apter_6N		GCT CGG AGA			C
			TGT GTA TAA			
			GAG ACA			
			GNN NNN			
			NNC CGH YTG			
			AYY TGR GGT			
			CDC			

Ensuite, la deuxième étape est une première purification (dite purification1), à l'aide de billes magnétiques (Mag-Bind®) avec un ratio billes/ADN de 0.8 (25 μL d'ADN pour 20 μL de PEG/billes). Cette purification permet d'éliminer les dimères de primers issus de la première PCR1.

La troisième étape consiste en une seconde PCR (PCR2) afin d'identifier chaque échantillon à l'aide d'un taq unique ou encore appelé index.

La quatrième étape est une deuxième purification (dites purification2). La réalisation de la purification 2 se fait avec un ratio billes/ADN de 0.6 (25 μL de d'ADN pour 12 μL de PEG/billes).

Une fois les librairies finalisées, une quantification est réalisée à l'aide de la technologie PicoGreen®. Cette quantification permet d'avoir une concentration équimolaire entre tous les échantillons lors du pooling, requis pour le séquençage.

Le séquençage a été réalisé au sein de la plateforme de séquençage de l'Université de Liège du GIGA (par le GIGA-Genomics), dans une machine un séquenceur Illumina NOVAQ6000 Illumina. Le nombre de reads demandé par échantillon de 150 pb paired-end est de 100 000.

Préparation librairie

PCR1: primer

PCR2: Index

Pool

Figure 5. Etapes pour l'obtention de données NGS

4.2.2. Analyses informatiques

Préalablement, une base de données a été créée sur base de la littérature existante (des travaux préliminaires ont été réalisés par l'équipe du Cirad rassemblant ces informations), regroupant les séquences d'ADN des fragments TrnL (80 bp) et ITS2 (150 bp) des espèces suspectées comme faisant parties du régime alimentaire des chauves-souris africaines frugivores d'Afrique de l'Ouest. Cette base de données a été créée à partir de GenBank (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/), ITS2 database (http://its2.bioapps.biozentrum.uni-wuerzburg.de/) et de BoldSystems

(<u>https://www.boldsystems.org/</u>). Elle a permis d'avoir une idée des espèces attendues dans le régime alimentaire d'*E. helvum* et de comparer celles-ci aux séquences obtenues dans nos échantillons.

Bien que le fragment TrnL soit régulièrement utilisé pour ce type d'analyse, nous avons préféré utiliser le fragment ITS2 étant donné qu'il permet une identification plus précises, généralement jusqu'à l'espèce. Les séquences ITS2 des différentes espèces repérées dans la littérature ont été listées dans un tableau excel.

Les données brutes issues du séquençage (fastq) ont été introduites dans un système bioinformatique reprenant un script créé au sein du laboratoire par le Dr Adrien André. L'obtention des séquences FASTA s'est déroulée en deux étapes. Les adaptateurs ont tout d'abord été éliminés suivi d'un nettoyage des séquences par le package « Fastq Quality filter » avec Q =30 et P = 90 (ce qui signifie que minimum 90% de bases qui peuvent avoir 30% de qualité). Les séquences provenant de notre étude ont été comparées avec la bases de données publique « UNITE community » (DOI: 10.15156/BIO/786376). Cette comparaison a permis *in fine* d'obtenir la liste des espèces de plantes présentes dans le régime alimentaire d'*E. helvum*.

Les résultats obtenus sous format Excel ont ensuite été analysés à l'aide du logiciel R (interface R studio). Ces analyses ont permis de supprimer les séquences trouvées en plusieurs exemplaires. Les séquences trop petites ont aussi été supprimée en raison de leur faible spécificité. Les séquences donnant un degré d'homologie avec la base de données inférieur à 97% ont également été supprimées en raison de leur faible fiabilité. Une fois ces nettoyages effectués. Pour chaque genre, un gradient de présence a été établi à l'aide de la Base de données des plantes d'Afrique (https://www.ville-ge.ch/musinfo/bd/cjb/africa/index.php?langue=fr), Plantes Botanique (https://www.plantes-botanique.org/) et du livre de la Flore (Angiospermes) de la République de Guinée de S. Lisowski, 2008. La présence ou non du genre en Guinée, en Afrique de l'Ouest et en Afrique a été établie. La distribution de chaque espèce a aussi été recherchée et établie lorsque l'information était disponible. A l'aide de la Flore, les genres comportant des espèces cultivées en Guinée ont été listés.

En parallèle de la comparaison à la base de données publique, un blast a été réalisé à partir de la base de données construite d'après la littérature et correspondant uniquement aux espèces de plantes présentes en Afrique potentiellement consommées par *E. helvum*. Ce blast a été réalisé sur le serveur NIC5 de l'université de Liège à l'aide du package <u>BLAST/2.11.0-Linux_x86_64</u>. Les résultats ont été analysés de la même façon que l'approche précédente.

5. Résultats

Après analyse, sur les 115 échantillons, 67 d'entre eux ont donné des résultats, ce qui représente 58% des échantillons. Le nombre d'échantillons ayant donné des résultats et le nombre d'espèces trouvées par échantillons diminue avec l'ancienneté des échantillons. Les échantillons datant de 2019 ont donné moins de résultats que ceux de 2020. Avec le temps, l'ADN se dégrade malgré la conservation en éthanol absolu.

5.1. Comparaison de nos séquences avec la base de données publique (UNITE community)

Dans ces 67 échantillons, nous avons retrouvé 398 espèces de plantes différentes dont des Streptophyta et des Chlorophyta. On y retrouve 43 espèces de mousses et d'hépatiques (43 genres), 15 espèces d'algues (17 genres (certaines identifications n'ont pas été jusqu'à l'espèce)) et 322 espèces de plantes vasculaires (voir tableau en annexe 3). En tout, 341 genres sont représentés parmi ces espèces (voir tableau en annexe 3). Certains d'entre eux apparaissent plus représentés que les autres parmi les échantillons. C'est le cas pour les genres ; *Fragreae, Ficus, Ipomoea, Mangifera, Microcycas, Ochradenus, Syzygium* et *Terminalia* que l'on retrouve dans au moins 5 échantillons différents. Le genre *Ficus* et le genre *Mangifera* sont fortement représenté dans les échantillons, avec le genre *Ficus* représenté dans 27 échantillons et le genre *Mangifera* dans 45 échantillons.

5.1.1. Répartition et littérature

La répartition des genres et familles de plantes identifiés a été divisée en 3 catégories: provenance de Guinée, provenance d'Afrique de l'Ouest et provenance de l'ensemble de l'Afrique. L'Afrique de l'Ouest est composé de 15 pays comprenant le Benin, le Burkina Faso, le Cap Vert, la Côte d'Ivoire, la Gambie, le Ghana, la Guinée-Bissau, la Guinée, le Libéria, le Mali, le Niger, le Nigeria, le Sénégal, le Sierra Leone et le Togo. Dans nos échantillons, sur les 441 séquences différentes de plantes, 56.33% ont une famille présente en Guinée contre 29,15% des genres. 63.38% des mêmes espèces de plantes ont une famille qui est présente en Afrique de

l'Ouest pour 36.81% des genres. 71.83% ont une famille présente en Afrique pour 57.81% des genres. Seulement 47 espèces de plantes identifiées dans nos analyses sont présentes en Guinée.

Suite aux analyses bibliographiques, nous avons pu déterminer que 35 genres de plantes identifiés lors de nos analyses étaient présents à Conakry. Les genres *Acacia, Allium, Artocaprus, Canna, Carica, Ceiba, Chamaecrista, Citrus, Dracaena, Euphorbia, Ficus, Garcinia, Ipomoea, Mangifera, Phaseolus, Tagetes* et *Terminalia*, possèdent des espèces cultivées à Conakry. D'autres genres possèdent des espèces qui se retrouvent principalement dans des zones rurales ou rudérales de Conakry. C'est le cas pour le genre *Hyptis, Indigodera, Pilea* et *Sporobolus*. On retrouve également des genres comportant des espèces de mangroves ou de marécages, comme *Avicennia, Impatiens* et *Panicum*.

Parmi la liste des familles, 16 familles de mousses et d'hépatique, et 8 familles d'algue ont été également identifiées. Parmi les genres, on compte 38 genres de mousses et d'hépatiques, et 15 genres d'algue terrestre.

Il est intéressant de noter que 30.61% des familles identifiées dans nos analyses ne semblent pas se retrouver en Afrique, en fonction des données actuellement disponibles. Ce résultat peut s'expliquer par un manque d'informations concernant le marqueur ITS2 de la flore africaine.

5.2. Comparaison de nos séquences avec la base de données sélectionnant uniquement des espèces africaines potentiellement consommées par *E. helvum*.

La base de données que nous avions créée sur base des informations de la littérature comportait 131 espèces de Streptophyta pour lesquelles nous avions cherché des séquences ITS2 sur GenBank, BOLD et ITS2. Après le blast, nous avons pu identifier 103 espèces de plantes (annexe 4) au sein de nos échantillons, avec un degré d'homologie de plus de 97%. En tout, 61 genres sont représentés parmi ces espèces et 34 familles. Comme pour la première comparaison effectuée à partir des bases de données publiques, certains de ces genres sont représentés en plus grand nombre dans nos échantillons. C'est le cas pour les genres ; *Adansonia, Annona, Anthocleista, Balanites, Ceiba, Daniellia, Diospyros, Ekebergia, Eriobotrya, Ficus, Kigelia, Mangifera, Melia, Melothria, Milicia, Myrianthus, Persea, Rauvolfia, Sideroxymon, Syzygium, Terminalia, Theobroma, Trichilia et Vitex.* Les genres Ficus, Mangifera, Syzygium et Terminalia

sont représenté dans plus de 5 échantillons dans les deux méthodes. Comme pour la première approche, ce sont les genre *Ficus* et *Mangifera* qui sont les plus représentés parmi les échantillons, avec le genre *Ficus* présent dans 39 échantillons et le genre *Mangifera* dans 68 échantillons.

5.2.1. Répartition et littérature

La répartition des genres et des familles a également été divisée en trois : Guinée, Afrique de l'Ouest et Afrique. Sur les 61 genres, 86.89% se retrouvent en Guinée, 88.52% se retrouvent en Afrique de l'Ouest et 100% se retrouvent en Afrique. Sur les 34 familles, 94.12% se retrouvent en Guinée, 97.06% se retrouvent en Afrique de l'Ouest et 100% se retrouvent en Afrique.

Suite à des analyses bibliographiques similaires à celles décrites précédemment, nous avons pu déterminer que 14 genres se retrouvent à Conakry même. Parmi ces genres, les genres *Albizia*, *Anacardium*, *Azadirachta*, *Elaeis*, *Eriobotyra*, *Mangifera*, *Musa*, *Persea* et *Spathodea* possèdent des espèces cultivées. Notons que le genre *Passiflora* se retrouvent dans des zones rudérales.

5.2.2. Comparaison des résultats obtenus entre les deux bases de données

Si nous comparons les résultats obtenus avec les deux approches (base de données publiques et notre propre base de données), 16 genres apparaissent en commun. C'est le cas pour le genre Acacia, Anthocleista, Artocarpus, Carica, Ceiba, Daniellia, Dracaena, Ficus, Mangifera, Milicia, Parinari, Rauvolfia, Sideroxylon, Sterculia, Syzygium et Terminalia. 21 familles se retrouvent également dans les deux, Anacardiaceae, Apocynaceae, Aracaceae, Asparagaceae, Caricaceae, Chrysobalanaceae, Combretaceae, Cucurbitaceae, Fabaceae, Gentianaceae, Lamiaceae, Malvaceae, Moraceae, Myrtaceae, Passifloraceae, Phyllantaceae, Rosaceae, Sapindaceae, Sapotaceae, Urticaceae et Zygophyllaceae.

6. Discussion

L'étude du régime alimentaire permet de comprendre les relations entre l'animal et son environnement. Les chauves-souris sont essentielles à leur écosystème et fournissent des services écosystémiques vitaux, comme la dispersion à grande échelle des graines ou la pollinisation (Amponsah-Mensah et al., 2019). De nombreuses études sur le régime alimentaire de différentes chauves-souris frugivores existent (Del Vaglio et al., 2011; Aziz et al., 2016; Amponsah-Mensah et al., 2019). Cependant, celles concernant Eidolon helvum sont peu nombreuses, voire inexistantes avec l'utilisation du « métabarcoding ». Or Eidolon helvum fait partie des chauves-souris suspectées d'être vectrices et réservoirs du virus Ebola et de Marburg, bien que les pourcentages de tests sérologiques pour ce dernier soient très faible (Leendertz et al., 2016). Étudier le régime alimentaire d'E. helvum permet des avancées dans la compréhension de la propagation du virus Ebola entre les populations de chauves-souris et les populations humaines, comme c'est le cas dans l'étude de Khan et al. (2010) sur le virus Nipah. Cette étude a mis en évidence des contacts physiques réguliers entre les chauves-souris et la sève de palmiers dattiers récoltée pour la consommation humaine. Par conséquent, ils ont démontré un lien important entre le Nipah chez les chauves-souris, la sève des palmiers dattier et le Nipah chez l'homme (Khan et al., 2010). Les analyses réalisées dans le cadre de ce mémoire par une approches de « métabarcoding » ont permis de dresser la liste des espèces consommées par E. helvum dans la région de Conakry. En utilisant le marqueur ITS2, les séquences obtenues ont été comparées à deux base de données : la première reprenant 196 344 séquences de plantes Eukaryotes et la deuxième comprenant 131 espèces de plantes déjà identifiées comme potentiellement consommées par E. helvum et présentes en Afrique.

6.1. Comparaison des deux bases de données

Les séquences obtenues suite aux manipulations de laboratoire ont été comparées à deux bases de données différentes. Premièrement, sur la base de données publique « Unite community ». Cette base contient 196 344 séquences de plantes vérifiées et est ainsi plus fiables que celles des bases de données en open access comme GenBank. Deuxièmement, nos séquences ont été blastées sur la base de données comprenant les espèces potentiellement consommées par *E. Helvum*

constituée préalablement avec des séquences vérifiées provenant de GenBank, BOLD et ITS2 et correspondant à des espèces uniquement identifiées en Afrique.

Comme attendu, la première méthode a sorti un grand nombre de résultats, nettement plus important que la deuxième méthode. Cependant, un certain nombre de genres correspondant aux espèces sorties de la base de données publique ne se retrouvent pas en Afrique (annexe 5). Plusieurs hypothèses peuvent expliquer ces discordances : le manque de connaissance sur la flore africaine et, particulièrement en Afrique de l'Ouest, les erreurs d'identification sur la base de données utilisées , la ressemblance des séquences de genres différents suite à la petite taille du marqueur utilisé ou encore la dégradation de l'ADN qui rend les séquences moins spécifiques.

Néanmoins, la première approche donne de nombreuses informations très intéressantes et tout à fait inédites complémentaire à la deuxième méthode. Elle a permis de mettre en évidence des espèces/genres observés dans les mangroves et les marécages. Ainsi, les genres *Avicennia*, *Impatiens* et *Panicum* comprennent des espèces de marécages identifiées en Guinée. *Avicennia germinans* (Palétuvier blanc) est un exemple d'espèce se retrouvant au bord de l'océan, dans les mangroves. On en retrouve au nord-est de Conakry ainsi qu'aux alentours de la ville.

Ce résultat suggère très fortement que les chauves-souris étudiées se déplacent sur de grandes distances et vont se nourrir dans les zones marécageuses et de mangroves situées à proximité de Conakry (Fig 6).

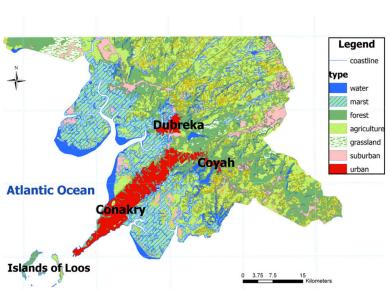


Figure 6. Type de sol à Conakry et ses alentours (2011) (Sylla et al., 2012)

Les différentes espèces d'Impatiens trouvées en Guinée (*I. bennae, I. irvingii, I. jacquessii*) ne se trouvent pas à Conakry, confirmant également des déplacements à longues distances de ces chauves-souris. Ces espèces se retrouvent dans le massif de Benna, à Macenta, aux pays de Konankés, à Nzérékoré et à Bilima. Le genre *Panicum* contient 27 espèces présentes en Guinée. Dans ces espèces, *P. afzelii* (espèce de savane), *P. brazzavillense* (espèce de marécages) et *P. parvifolium* (espèce de marécage) se retrouvent à Conakry, suggérant un régime alimentaire varié dans différents types de milieux (Lisowski., 2008).

La deuxième base de données correspondant à des espèces africaines suspectées d'être mangées par *E. Helvum* permis d'identifier 86% de genres présent en Guinée. La liste créée d'espèces suspectées de constituer le régime alimentaire des chauves-souris frugivores africaines n'est pas exhaustive mais cette deuxième comparaison permet de valider les espèces consommées suite aux observations de terrain. La liste créée d'espèces suspectées de constituer le régime alimentaire des chauves-souris frugivores africaines n'est pas exhaustive et est probablement incomplète. Cependant, elle a été construire à partir de plusieurs bases de données différentes, ce qui a permis de rassembler des séquences éparpillées dans les différentes base de données.

L'utilisation des deux bases de données différentes est donc complémentaire. En effet, « Unite community » est une base de données globales qui regroupe des espèces provenant de partout dans le monde. Cette base permet une identification avec une plus grande quantité de séquence à comparer. Elle permet entre-autres de découvrir des espèces qu'on ne soupçonnaient pas faire partie du régime alimentaire, comme c'est le cas pour les espèces de plantes vivant dans les milieux marécageux. La deuxième méthode quant à elle a permis de valider des espèces que l'on soupçonnait déjà consommées par E. helvum.

Certains genres et familles ont été identifiés à partir des deux bases de données : *Acacia, Anthocleista, Artocarpus, Carica, Ceiba, Daniellia, Dracaena, Ficus, Mangifera, Milicia, Parinari, Rauvolfia, Sideroxylon, Sterculia, Syzygium* et *Terminalia*. De plus, tous ces genres, sauf le genre *Sideroxylon*, ont déjà été recensés en Guinée. Ces genres font donc partie du régime alimentaire d'*Eidolon helvum*. Certaines espèces de ces genres présent dans le régime alimentaire d'E. helvum sont également communes aux deux bases de données repris dans le tableau 2 (Tab.2).

Table 2. Genres et espèces identifiés dans les deux bases de données

« Unite community »		Base	
Genre	Espèces	Genre	Espèces
Acacia	/	Acacia	Mangium
Ceiba	pentadra	Ceiba	pentadra
Daniellia	ogea	Daniellia	oliveri
Dracaena	cochinchinensis	Dracanea	cochinchinensis
Ficus	aspera	Ficus	benjamina
	benjamina		burkei
	botryoides		exasperata
	brachypoda		lutea
	congensis		lyrata
	densifolia		natalensis
	dicranostyla		ovata
	exasperata		polita
	nigropunctata		pumila
	platyphylla		scott-elliotii
	reflexa		sur
	robusta		thonningii
	semivestita		trichopoda
	sur		
	tiliifolia		
	tremula		
	trichopoda		
Mangifera	camptosperma	Mangifera	andamanica
	indica		indica
	laurina		zeylanica
	odorata		
Milicia	excelsa	Milicia	excelsa
Parinari	/	Parinari	campestris
			excelsa
Rauvolfia	tetraphylla	Rauvolfia	micrantha
			veticillata
Sideroxylon	floribundum	Sideroxylon	inerme
Sterculia	nobilis	Sterculia	lanceolata

			nobilis
Syzygium	aqueum	Syzygium	maire
	samarangense		kajuik Lake
			wilsonii
Terminalia	mantaly	Terminalia	catappa
	catappa		

Les espèces communes sont *Ceiba pentadra*, *Dracaena cochinchinensis*, *Ficus benjamina*, *F. exasperata*, *F. sur*, *F. trichopoda*, *Mangifera indica*, *Milicia excelsa*, *Sterculia nobilis et Terminalia catappa*. Ces espèces communes font dès lors partie du régime alimentaire d'*E. helvum*.

6.2. Cultures et zones rurales

Les contacts entre l'homme et les chauves-souris ne sont pas rares. En effet, les chauves-souris se voient obligées dans certains cas de partager leurs ressources de nourriture avec l'homme, ce phénomène augmentant avec la déforestation. C'est par exemple le cas au Bangladesh où les chauves-souris vont se nourrir de la sève des palmiers récoltée par l'homme (Khan et al., 2010). Dans les cultures, notamment en Guinée, les chauves-souris sont aussi considérées comme des parasites agricoles (Bumrungsri et al., 2009). Or, l'agriculture est l'une des principales activités économiques de Conakry (Sylla et al., 2012). Des chauves-souris (espèces inconnues) viendraient se nourrir sur *Anacardium accidentale*. Les fermiers de Guinée regroupent donc les chauves-souris parmi les mammifères venant ravager leurs cultures, en abîmant notamment les fruits d'espèces cultivées (Aziz et al., 2016).

Un certain nombre des genres listés dans nos résultats sont cultivés à Conakry, Acacia, Albizia, Allium, Anacardium, Artocaprus, Azadirachta, Canna, Carica, Ceiba, Chamaecrista, Citrus, Dracaena, Elaeis, Euphorbia, Eriobotyra, Ficus, Garcinia, Ipomoea, Mangifera, Musa, Persea, Phaseolus, Spathodea, Tagetes et Terminalia.

Certains de ces genres se retrouvent dans un plus grand nombre d'échantillons. C'est particulièrement le cas pour les genres *Ficus* et *Mangifera*. Or l'espèce *Mangifera indica* fait partie des espèces les plus cultivées à Conakry. Il est donc probable que cette espèce soit un des

principaux composants du régime alimentaire d'*E. helvum*. Le genre F*icus* est également très fortement répandu en Afrique de l'Ouest, notamment en Guinée. Le constat est donc similaire à celui du genre *Mangifera*.

Certains genres de la liste ne sont pas cultivés mais se retrouvent tout de même dans des zones rurales ou rudérales à Conakry. C'est le cas pour les genres *Hyptis, Indigodera, Passiflora, Pilea* et *Sporobolus* qui représentent donc également de potentielles zones de contacts entre les chauves-souris et l'homme.

6.3. Littérature

Une comparaison des résultats avec la littérature existante a été réalisée, afin de confirmer les espèces présentes dans le régime alimentaire d'*Eidolon helvum* (Tab. 3).

Table 3. Espèce citées dans la littérature et confirmées par nos analyses.

Espèces	Littérature		Lieu		
Carica papaya	Webela et al2014, Niamien et	Cultivé	C ô t e		
	al., 2009	d'Ivoire ,Kenya			
Elaeis guineensis	Niamien et al., 2009		Côte d'Ivoire		
Eriobotrya japonica	Webela et al., 2014	Cultivé	Kenya		
Ficus benjamina	Niamien et al., 2009		Côte d'Ivoire		
Ficus exasperata	Niamien et al., 2009		Côte d'Ivoire		
Ficus lutea	Webela et al., 2014, Niamien		Kenya, Côte		
	et al., 2009		d'Ivoire		
Ficus natalensis	Webela et al., 2014		Kenya		
Ficus ovata	Webela et al., 2014		Kenya		
Ficus polita	Niamien et al., 2009	Niamien et al., 2009			
Ficus sur	Webela et al., 2014, Niamien et	Webela et al., 2014, Niamien et			
	al., 2009		d'Ivoire		
Ficus thonningii	Webela et al., 2014				
Ficus umbellata	Niamien et al., 2009	Niamien et al., 2009			
Magnistipula butayeii	Ritcher et Cumming., 2005	tcher et Cumming., 2005			
Mangifera indica	Webela et al., 2014 ;Niamien et Cultivé		Côte d'Ivoire,		
	al., 2009, Ritcher et		Kenya, Zambie		
	Cumming., 2005				
Melia azedarach	Webela et al., 2014		Kenya		

Milicia excelsa	Taylor et al., 2000		Afrique de
			l'Ouest
Musa spp	Ritcher et Cumming., 2005		Zambie
Persea americana	Webela et al., 2014		Kenya
Psidium guajava	Webela et al., 2014, Niamien et	Cultivé	Kenya, Côte
	al., 2009		d'Ivoire

Les genres *Ficus*, *Mangifera* et *Musa* sont particulièrement cité dans la littérature comme étant des plantes consommées par les chauves-souris frugivores (Webala et al., 2014). Or les genres *Ficus* et *Mangifera* sont les plus représentés dans nos échantillons. Ces genres constituent donc potentiellement la majorité du régime alimentaire d'*E. helvum*. Dans la littérature, on retrouve également le genre Anacardium (*Anacardium occidentale*) comme faisant partie du régime alimentaire des chauves-souris frugivore (Van Mele et al., 2009). La littérature ne permet pas de confirmer que cette espèce est bien consommée par *Eidolon helvum*. Néanmoins, nos analyses ont mis en évidence la présence d'*Anacardium occidentale* dans nos échantillons, cela confirme la présence de cette espèce dans le régime alimentaire d'*E. helvum*.

Ces analyses ont permis d'augmenter nos connaissances sur le régime alimentaire d'Eidolon helvum. Premièrement, les études du régime alimentaire d'E. helvum se basent majoritairement sur des observations de terrain. Ce travail a permis de confirmer par des analyses de « métabarcoding » la présence d'une série d'espèces recensées dans ces études. Les espèces concernées sont listées précédemment dans la table 3. Deuxièmement, ce travail met en évidence de nouvelles espèces qui n'étaient pas encore citées dans la littérature: Anacardium occidentale, Ceiba pentadra, Dracaena cochinchinensis, Ficus trichopoda, Sterculia nobilis et Terminalia catappa. Troisièmement, il permet de lister les genres qui se trouvent à Conakry et donc qui correspondent très vraisemblablement au régime alimentaire d'E. helvum : Acacia, Albazia, Allium, Anacardium, Anthocleista, Artocaprus, Avicennia, Azadirachta, Canna, Carica, Ceiba, Citrus, Dracaena, Elaeis, Euphorbia, Eriobotyra, Ficus, Garcinia, Hyptis, Impatiens, Indigodera, Ipomoea, Mangifera, Milicia, Musa, Panicum, Parinari, Persea, Phaseolus, Pilea, Spathodea, Sporobolus, Sterculia, Passiflora, Tagetes et Terminalia. Dans ces genres, 3 sont des genres qui comprennent des espèces de mangroves ou de marécages (Avicennia, Impatiens et Panicum) qui corrèlent avec la position géographique de Conakry. Ceci permet également de confirmer la visite de ces zones par les chauves-souris et donc leur déplacement sur de longues distances pour se nourrir. Quatrièmement, la présence de genres et d'espèces cultivés à Conakry met en évidence des zones de contacts potentiel entre les chauves-souris et l'homme.

6.4. Chlorophyta

Dans la liste d'espèces sorties à partir de la base de données publique, plusieurs espèces d'algues et de mousses sont retrouvées. Cependant, la littérature ne parle pas de cas recensés de chauves-souris se nourrissant d'algues terrestres ou de mousses. Il est donc peu probable que ces espèces fassent partie du régime alimentaire d'*Eidolon helvum*. La croissance de ces algues et mousses sur les parties des plantes consommées par les chauves-souris constitue une hypothèse plausible à la présence de celles-ci dans les fèces d'*E. helvum*. Malheureusement, les informations disponibles sont ces taxons sont fort restrictives et ne permettent pas une analyse approfondie.

7. Conclusion

Cette étude a permis de lister les espèces suspectées de faire partie du régime alimentaire d'Eidolon helvum, ainsi que de confirmer la présence de 25 espèces dans son régime alimentaire (voir table 2 et 3). L'ensemble de ces résultats montre une grande diversité du régime alimentaire d'Eidolon helvum avec 37 genres confirmés. Elle a également permis de mettre en évidence d'éventuels lieux de contacts entre les hommes et les chauves-souris, grâce à la preuve de l'utilisation des zones de cultures par les chauves-souris afin de se nourrir. Ces lieux représentent un risque de contact (consommation viande de brousse) ou indirect (contamination des fruits partiellement mangés par les chauves-souris) entre les populations locales et les chauves-souris. De plus, la mauvaise réputation des chauves-souris auprès des habitants augmente les risques de chasse et donc de contacts avec des cadavres d'individus contaminés. La propagation du virus Ebola étant possible par contact sanguin ou salivaire, les risques de contamination au niveau de ces lieux de contacts sont réels.

Des campagnes de sensibilisation de la population concernant le risque d'être contaminé par les chauves-souris si celles-ci sont tuées, mais aussi l'intérêt des chauves-souris en tant notamment que pollinisatrices des plantes ou dans la dispersion de graines, permettraient peut être de faire changer les mentalités et de diminuer les risques de transferts de pathogènes par contacts entre les hommes et ces mammifères volants.

- Africa CDC., 2021. Fiche d'épidémie n°9: Maladie à virus Ebola (MVE). Disponible sur : https://africacdc.org/wp-content/uploads/2021/04/AfricaCDC_EbolaBrief_20April21_FR.pdf (consulté le 11 aout 2021)
- Amman, B.R., Swanepoel, R., Nichol, S.T., Towner, J.S., 2017. Ecology of Filoviruses, in: Mühlberger, E., Hensley, L.L., Towner, J.S. (Eds.), Marburg- and Ebolaviruses, Current Topics in Microbiology and Immunology. Springer International Publishing, Cham, 23–61. https://doi.org/10.1007/82_2017_10
- Amponsah-Mensah, K., Cunningham, A.A., Wood, J.L.N., Ntiamoa-Baidu, Y., 2019. Seasonal variation
 in food availability and relative importance of dietary items in the Gambian epauletted fruit bat
 (*Epomophorus gambianus*). Ecology and Evolution 9, 5683–5693. https://doi.org/10.1002/ece3.5150
- Ashford, R.W., 2003. When Is a Reservoir Not a Reservoir? Emerging Infectious Diseases 9, 1495–1496. https://doi.org/10.3201/eid0911.030088
- Aziz, S.A., Olival, K.J., Bumrungsri, S., Richards, G.C., Racey, P.A., 2016. The Conflict Between Pteropodid Bats and Fruit Growers: Species, Legislation and Mitigation, in: Voigt, C.C., Kingston, T. (Eds.), Bats in the Anthropocene: Conservation of Bats in a Changing World. Springer International Publishing, Cham, 377–426. https://doi.org/10.1007/978-3-319-25220-9 13
- Baker, M.L., Schountz, T., Wang, L.-F., 2013. Antiviral Immune Responses of Bats: A Review. Zoonoses and Public Health 60, 104–116. https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2012.01528.x
- Bohmann, K., Gopalakrishnan, S., Nielsen, M., Nielsen, L. dos S.B., Jones, G., Streicker, D.G., Gilbert, M.T.P., 2018. Using DNA metabarcoding for simultaneous inference of common vampire bat diet and population structure. Molecular Ecology Resources 18, 1050–1063. https://doi.org/10.1111/1755-0998.12891
- Bohmann, K., Monadjem, A., Lehmkuhl Noer, C., Rasmussen, M., Zeale, M.R.K., Clare, E., Jones, G., Willerslev, E., Gilbert, M.T.P., 2011. Molecular Diet Analysis of Two African Free-Tailed Bats (Molossidae) Using High Throughput Sequencing. PLoS ONE 6, e21441. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021441
- Brook, C.E., Dobson, A.P., 2015. Bats as 'special' reservoirs for emerging zoonotic pathogens. Trends in Microbiology 23, 172–180. https://doi.org/10.1016/j.tim.2014.12.004
- Bumrungsri, S., Sripaoraya, E., Chongsiri, T., Sridith, K., Racey, P., 2009. The pollination ecology of durian (Durio zibethinus, Bombacaceae) in southern Thailand. Journal of Tropical Ecology 25, 85–92. https://doi.org/10.1017/S0266467408005531
- Calisher, C.H., Childs, J.E., Field, H.E., Holmes, K.V., Schountz, T., 2006. Bats: Important Reservoir Hosts of Emerging Viruses. CMR 19, 531–545. https://doi.org/10.1128/CMR.00017-06
- Cooper-Bohannon, R., Mickleburgh, S., Hutson, A.M., Bergmans, W., Fahr, J. & Racey, P.A. 2020.
 Eidolon helvum. The IUCN Red List of Threatened Species 2020: e.T7084A22028026. https://dx.doi.org/10.2305

- Dobson, A.P., 2005. What Links Bats to Emerging Infectious Diseases. Science 310, 628–629. https://doi.org/10.1126/science.1120872
- Fahr, J., Abedi-Lartey, M., Esch, T., Machwitz, M., Suu-Ire, R., Wikelski, M., Dechmann, D.K.N., 2015.
 Pronounced Seasonal Changes in the Movement Ecology of a Highl Gregarious Central-Place Forager, the African Straw-Coloured Fruit Bat (Eidolon helvum). PLOS ONE 10, e0138985. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138985
- Guay, J-H., 2021. Perspective Monde. Disponible sur: https://perspective.usherbrooke.ca/bilan/servlet/BMT e n d a n c e S t a t P a y s ? codeTheme=1&codeStat=SP.POP.TOTL&codePays=GIN&optionsPeriodes=Aucune&codeTheme2=1&codeStat2=x&codePays2=GIN&optionsDetPeriodes=avecNomP
- Hassanin, A., Bonillo, C., Tshikung, D., Pongombo Shongo, C., Pourrut, X., Kadjo, B., Nakouné, E., Tu, V.T., Prié, V., Goodman, S.M., 2020. Phylogeny of African fruit bats (Chiroptera, Pteropodidae) based on complete mitochondrial genomes. J Zool Syst Evol Res jzs.12373. https://doi.org/10.1111/jzs.12373
- Institut Pasteur., 2021. *Ebola*. Disponible sur : https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/ebola (consulté le 8 juillet 2021)
- Jones, B.A., Grace, D., Kock, R., Alonso, S., Rushton, J., Said, M.Y., McKeever, D., Mutua, F., Young, J., McDermott, J., Pfeiffer, D.U., 2013. Zoonosis emergence linked to agricultural intensification and environmental change. Proceedings of the National Academy of Sciences 110, 8399–8404. https://doi.org/10.1073/pnas.1208059110
- Jones, K.E., Patel, N.G., Levy, M.A., Storeygard, A., Balk, D., Gittleman, J.L., Daszak, P., 2008. Global trends in emerging infectious diseases. Nature 451, 990–993. https://doi.org/10.1038/nature06536
- Khan, M.S.U., Hossain, J., Gurley, E.S., Nahar, N., Sultana, R., Luby, S.P., 2010. Use of infrared camera to understand bats' access to date palm sap: implications for preventing Nipah virus transmission. Ecohealth 7, 517–525. https://doi.org/10.1007/s10393-010-0366-2
- Leendertz, S.A.J., Gogarten, J.F., Düx, A., Calvignac-Spencer, S., Leendertz, F.H., 2016. Assessing the Evidence Supporting Fruit Bats as the Primary Reservoirs for Ebola Viruses. EcoHealth 13, 18–25. https://doi.org/10.1007/s10393-015-1053-0
- Leroy, E.M., Epelboin, A., Mondonge, V., Pourrut, X., Gonzalez, J.-P., Muyembe-Tamfum, J.-J., Formenty, P., 2009. Human Ebola Outbreak Resulting from Direct Exposure to Fruit Bats in Luebo, Democratic Republic of Congo, 2007. Vector-Borne and Zoonotic Diseases 9, 723–728. https://doi.org/10.1089/vbz.2008.0167
- Lisowski, S., 2008. Flore (Angiospermes) De La République de Guinée, Premiere Partie (texte). Scripta Botanica Blegica 41.
- Lu, R., Zhao, X., Li, J., Niu, P., Yang, B., Wu, H., Wang, W., Song, H., Huang, B., Zhu, N., Bi, Y., Ma, X., Zhan, F., Wang, L., Hu, T., Zhou, H., Hu, Z., Zhou, W., Zhao, L., Chen, J., Meng, Y., Wang, J., Lin, Y., Yuan, J., Xie, Z., Ma, J., Liu, W.J., Wang, D., Xu, W., Holmes, E.C., Gao, G.F., Wu, G., Chen, W., Shi, W., Tan, W., 2020. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. The Lancet 395, 565–574. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8

- Niamien, M., Yaokokore-beibro, H., Kone, I., Yao, S., N'goran, E., 2009. Données préliminaires sur les habitudes alimentaires des chauves-souris paillées, Eidolon helvum (Kerr, 1972) (Chiroptera : Pteropodidae) de la commune d'Abidjan Plateau (Côte d'Ivoire). Agronomie Africaine 21. https://doi.org/10.4314/aga.v21i3.56445
- Organisation mondiale de la santé (OMS)(1)., 2018. *Maladie à virus Ebola*. Disponible sur : https://apps.who.int/mediacentre/factsheets/fs103/fr/index.html (Consulté le 5 mai 2021)
- Organisation mondiale de la santé (OMS)(2)., 2021. La Guinée confirme un cas de la maladie à virus de Marburg, le tout premier en Afrique de l'Ouest. Disponible sur : https://www.afro.who.int/fr/news/laguinee-confirme-un-cas-de-la-maladie-virus-de-marburg-le-tout-premier-en-afrique-de-louest. (Consulté le 16 août 2021)
- Organisation mondiale de la santé (OMS)(3)., 2021. *La Côte d'Ivoire déclare la première fmablée d'Ebola depuis plus de 25 ans*. Disponible sur : https://www.afro.who.int/fr/news/la-cote-divoire-declare-la-premiere-flambee-debola-depuis-plus-de-25-ans (Consulté le 20 août 2021)
- PassportHealt., 2021. Les essais indiquent que le vaccin contre Ebola est efficace à 100%. Disponible sur : https://www.passporthealthglobal.com/fr-ca/blogue/les-essais-indiquent-que-le-vaccin-contre-lebola-est-efficace-a-100/ (consulté le 29 juillet 2021)
- Peel, A.J., Wood, J.L.N., Baker, K.S., Breed, A.C., de Carvalho, A., Fernández-Loras, A., Gabrieli, H.S., Gembu, G.-C., Kakengi, V.A., Kaliba, P.M., Kityo, R.M., Lembo, T., Mba, F.E., Ramos, D., Rodriguez-Prieto, I., Suu-Ire, R., Cunningham, A.A., Hayman, D.T.S., 2017. How does Africa's most hunted bat vary across the continent? Population traits of the straw-coloured fruit bat (Eidolon helvum) and its interactions with humans. Acta Chiropterologica 19, 77-92. https://doi.org/10.3161/15081109ACC2017.19.1.006
- Perpetra, A., Kityo, M.R., 2009. Populations of Eidolon helvum in Kampala Over 40 Years. Tanzania Journal of Forestry and Nature Conservation 79, 1–7. https://doi.org/10.4314/tjfnc.v79i2
- Pompanon, F., Deagle, B.E., Symondson, W.O.C., Brown, D.S., Jarman, S.N., Taberlet, P., 2012. Who is eating what: diet assessment using next generation sequencing. Molecular Ecology 21, 1931–1950. https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05403.x
- Richter, H.V., Cumming, G.S., 2005. Food availability and annual migration of the straw-colored fruit bat (Eidolon helvum): Food availability and annual migrations. Journal of Zoology 268, 35–44. https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.2005.00020.x
- Rr-africa.oie.int., 2021. Disponible sur : https://rr-africa.oie.int/en/projects/ebo-sursy-en/. (Consulté le 10 mai 2021)
- Valentini, A., Miquel, C., Nawaz, M.A., Bellemain, E., Coissac, E., Pompanon, F., Gielly, L., Cruaud, C., Nascetti, G., Wincker, P., Swenson, J.E., Taberlet, P., 2009. New perspectives in diet analysis based on DNA barcoding and parallel pyrosequencing: the trnL approach. Molecular Ecology Resources 9, 51–60. https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2008.02352.x
- Van Mele, P., Camara, K., Vayssières, J.-F., 2009. Thieves, bats and fruit flies: Local ecological knowledge on the weaver ant Oecophylla longinoda in relation to three "invisible" intruders in orchards in Guinea. International Journal of Pest Management 55, 57-61. https://doi.org/10.1080/09670870802450276

- Symondson, W.O.C., 2002. Molecular identification of prey in predator diets. Molecular Ecology 11, 627–641. https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2002.01471.x
- Taylor, D.A., Kankam, B.O., Wagner, M., Cobbinah, J., 2000. The role of fruit bat, Eidolon helvum, in seed dispersal, survival, and germination in Milicia excelsa, a threatened West African hardwood. In J. R. Cobbinah, & M. R. Wagner (Eds.), Research advances in restoration of Iroko as a commercial species in West Africa (pp. 29–39). Kumasi, Ghana: Forestry Research Institute of Ghana (FORIG).
- Webala, P.W., Musila, S., Makau, R., 2014. Roost Occupancy, Roost Site Selection and Diet of Straw-Coloured Fruit Bats (Pteropodidae: *Eidolon helvum*) in Western Kenya: The Need for Continued Public Education. Acta Chiropterologica 16, 85–94. https://doi.org/10.3161/150811014X683291
- Wolfe, N.D., Daszak, P., Kilpatrick, A.M., Burke, D.S., 2005. Bushmeat Hunting, Deforestation, and Prediction of Zoonotic Disease Emergence. Emerging Infectious Diseases 11, 6.
- Wu, Y.-C., Chen, C.-S., Chan, Y.-J., 2020. The outbreak of COVID-19: An overview. Journal of Tha Chine Medical Association 83, 217–220. https://doi.org/10.1097/JCMA.00000000000000270

Annexe 1. Liste des échantillons utilisés

Date	N_identification_echantillon	Nbre_feces_par_tu	extraction
5/04/19	CINIGU535	he 1	Oui
5/04/19	CINIGU538	1	Oui
5/04/19	CINIGU543	1	Oui
5/04/19	CINIGU544	1	Oui
5/04/19	CINIGU553	1	Oui
5/04/19	CINIGU559	1	Oui
5/04/19	CINIGU560	1	Oui
5/04/19	CINIGU561	1	Oui
5/04/19	CINIGU563	1	Oui
5/04/19	CINIGU564	1	Oui
5/04/19	CINIGU578	1	Oui
5/04/19	CINIGU581	1	Oui
5/04/19	CINIGU592	1	Oui
5/04/19	CINIGU594	1	Oui
8/05/19	CINIGU845	1	
8/05/19	CINIGU846	1	
8/05/19	CINIGU847	1	Oui
8/05/19	CINIGU848	1	Oui
8/05/19	CINIGU849	1	Oui
8/05/19	CINIGU850	1	Oui
8/05/19	CINIGU851	1	
8/05/19	CINIGU852	1	Oui
8/05/19	CINIGU853	1	
8/05/19	CINIGU854	1	Oui
8/05/19	CINIGU856	1	Oui
8/05/19	CINIGU856'	1	Oui
8/05/19	CINIGU857	1	
8/05/19	CINIGU858	1	Oui
8/05/19	CINIGU859	1	Oui
8/05/19	CINIGU860	1	Oui
8/05/19	CINIGU861	1	

8/05/19	CINIGU862	1	Oui
8/05/19	CINIGU863	1	Oui
8/05/19	CINIGU864	1	
8/05/19	CINIGU865	1	Oui
8/05/19	CINIGU866	1	
8/05/19	CINIGU867	1	
8/05/19	CINIGU868	1	
8/05/19	CINIGU869	1	
8/05/19	CINIGU870	1	
8/05/19	CINIGU871	1	Oui
8/05/19	CINIGU872	1	
8/05/19	CINIGU873	1	
8/05/19	CINIGU874	1	
8/05/19	CINIGU875	1	
8/05/19	CINIGU876	1	
8/05/19	CINIGU877	1	
8/05/19	CINIGU878	1	
8/05/19	CINIGU880	1	
8/05/19	CINIGU879	1	Oui
8/05/19	CINIGU881	1	Oui
8/05/19	CINIGU882	1	
8/05/19	CINIGU884	1	
8/05/19	CINIGU883	1	Oui
8/05/19	CINIGU885	1	
8/05/19	CINIGU887	1	
8/05/19	CINIGU886	1	Oui
8/05/19	CINIGU888	1	
8/05/19	CINIGU890	1	
8/05/19	CINIGU889	1	Oui
8/05/19	CINIGU891	1	
8/05/19	CINIGU892	1	
8/05/19	CINIGU893	1	
8/05/19	CINIGU894	1	
1/11/19	CINIGU979 + CINIGU980 -> 979D	2	Oui
1/11/19	CINIGU981 + CINIGU982 -> 981D	2	Oui

1/11/19	CINIGU983 + CINIGU984 ->	2	
1/11/19	983D CINIGU985 + CINIGU986 ->	2	Oui
1/11/19	985D CINIGU987 + CINIGU988 ->	2	Oui
	987D		
1/11/19	CINIGU989 + CINIGU990 -> 989D	2	Oui
1/11/19	CINIGU991 + CINIGU992 -> 991D	2	
1/11/19	CINIGU993 + CINIGU994 -> 993D	2	Oui
1/11/19	CINIGU995 + CINIGU996 -> 995D	2	Oui
1/11/19	CINIGU997	2	
1/11/19	CINIGU998	2	
1/11/19	CINIGU999	2	
1/11/19	CINIGU1000	2	
1/11/19	CINIGU1001	2	
1/11/19	CINIGU1002	2	
1/11/19	CINIGU1003	2	Oui
1/11/19	CINIGU1004	2	
1/11/19	CINIGU1005	2	
1/11/19	CINIGU1006	2	
1/11/19	CINIGU1007	2	
1/11/19	CINIGU1008	2	
1/11/19	CINIGU1009	2	
1/11/19	CINIGU1010	2	
1/11/19	CINIGU1011	2	
1/11/19	CINIGU1012	2	
1/11/19	CINIGU1013	2	
1/11/19	CINIGU1014	2	Oui
1/11/19	CINIGU1015	2	Oui
1/11/19	CINIGU1016	2	
1/11/19	CINIGU1017	2	
1/11/19	CINIGU1018	2	
1/11/19	CINIGU1019	2	
1/11/19	CINIGU1020	2	Oui
1/11/19	CINIGU1021	2	Oui
1/11/19	CINIGU1022	2	Oui
1/11/19	CINIGU1023	2	Oui
1/11/19	CINIGU1024	2	Oui

1/11/19	CINIGU1025	2	Oui
1/11/19	CINIGU1026	2	Oui
1/11/19	CINIGU1027	2	Oui
1/11/19	CINIGU1028	2	Oui
1/11/19	CINIGU1029	2	Oui
10/01/20	CINIGU1193	2	Oui
10/01/20	CINIGU1194	2	Oui
10/01/20	CINIGU1195	2	Oui
10/01/20	CINIGU1196	2	
10/01/20	CINIGU1197	2	
10/01/20	CINIGU1198	2	
10/01/20	CINIGU1199	2	
10/01/20	CINIGU1200	2	
10/01/20	CINIGU1201	2	
10/01/20	CINIGU1202	2	Oui
10/01/20	CINIGU1203	2	Oui
10/01/20	CINIGU1204	2	Oui
10/01/20	CINIGU1205	2	
10/01/20	CINIGU1206	2	Oui
10/01/20	CINIGU1207	2	Oui
10/01/20	CINIGU1208	2	Oui
10/01/20	CINIGU1209	2	
10/01/20	CINIGU1210	2	
10/01/20	CINIGU1211	2	
10/01/20	CINIGU1212	2	
10/01/20	CINIGU1213	2	
10/01/20	CINIGU1214	2	
10/01/20	CINIGU1215	2	
10/01/20	CINIGU1216	2	Oui
10/01/20	CINIGU1217	2	
10/01/20	CINIGU1218	2	
10/01/20	CINIGU1219	2	
10/01/20	CINIGU1220	2	
10/01/20	CINIGU1221	2	
10/01/20	CINIGU1222	2	
10/01/20	CINIGU1223	2	

10/01/20	CINIGU1224	2	
10/01/20	CINIGU1225	2	
10/01/20	CINIGU1226	2	Oui
10/01/20	CINIGU1227	2	Oui
10/01/20	CINIGU1228	2	Oui
10/01/20	CINIGU1229	2	Oui
10/01/20	CINIGU1230	2	Oui
10/01/20	CINIGU1231	2	Oui
10/01/20	CINIGU1232	2	
10/01/20	CINIGU1233	2	Oui
10/01/20	CINIGU1234	2	Oui
10/01/20	CINIGU1235	2	Oui
10/01/20	CINIGU1236	2	Oui
21/02/20	CINIGU1351	2	Oui
21/02/20	CINIGU1352	2	Oui
21/02/20	CINIGU1353	2	Oui
21/02/20	CINIGU1354	2	Oui
21/02/20	CINIGU1355	2	Oui
21/02/20	CINIGU1356	2	Oui
21/02/20	CINIGU1357	2	Oui
21/02/20	CINIGU1358	2	Oui
21/02/20	CINIGU1359	2	Oui
21/02/20	CINIGU1360	2	
21/02/20	CINIGU1361	2	Oui
21/02/20	CINIGU1362	2	Oui
21/02/20	CINIGU1363	2	
21/02/20	CINIGU1364	2	
21/02/20	CINIGU1365	2	
21/02/20	CINIGU1366	2	
21/02/20	CINIGU1367	2	
21/02/20	CINIGU1368	2	
21/02/20	CINIGU1369	2	
21/02/20	CINIGU1370	2	
21/02/20	CINIGU1371	2	
21/02/20	CINIGU1372	2	
21/02/20	CINIGU1373	2	Oui

21/02/20	CINIGU1374	2	Oui
21/02/20	CINIGU1375	2	Oui
21/02/20	CINIGU1376	2	Oui
21/02/20	CINIGU1377	2	Oui
21/02/20	CINIGU1378	2	Oui
21/02/20	CINIGU1379	2	Oui
21/02/20	CINIGU1380	2	Oui
21/02/20	CINIGU1381	2	Oui
23/04/20	CINIGU1443	2	Oui
23/04/20	CINIGU1444	2	Oui
23/04/20	CINIGU1445	2	Oui
23/04/20	CINIGU1446	2	Oui
23/04/20	CINIGU1447	2	Oui
23/04/20	CINIGU1448	2	Oui
23/04/20	CINIGU1449	2	Oui
23/04/20	CINIGU1450	2	Oui
23/04/20	CINIGU1451	2	Oui
23/04/20	CINIGU1452	2	Oui
23/04/20	CINIGU1453	2	
23/04/20	CINIGU1454	2	
23/04/20	CINIGU1455	2	
23/04/20	CINIGU1456	2	
23/04/20	CINIGU1457	2	
23/04/20	CINIGU1458	2	
23/04/20	CINIGU1459	2	
23/04/20	CINIGU1460	2	
23/04/20	CINIGU1461	2	
23/04/20	CINIGU1462	2	
23/04/20	CINIGU1463	2	Oui
23/04/20	CINIGU1464	2	Oui
23/04/20	CINIGU1465	2	Oui
23/04/20	CINIGU1466	2	Oui
23/04/20	CINIGU1467	2	Oui
23/04/20	CINIGU1468	2	Oui
23/04/20	CINIGU1469	2	Oui
23/04/20	CINIGU1470	2	Oui

23/04/20	CINIGU1471	2	Oui
23/04/20	CINIGU1472	2	Oui

Annexe 2.

Protocole extraction

- Préparer des tubes de 2 mL annotés
- Transférer un morceau de la fece dans le tube de 2 mL (toujours essuyer la pince ou autre outils avec un papier, tremper l'outil dans de l'éthanol, le passer dans une flemme et le tremper dans l'eau)
- Faire chauffer l'inhibitif pour enlever les paillettes
- Ajouter 1 mL d'inhibitex dans les tubes
- Vortexer pendant 2 minutes (les fèces doivent être bien dégradées)
- Centrifuger 2 minutes au maximum
- Préparer les rotor adaptators
- Prendre 600 µL du surnageant des échantillons et les mettre dans les tubes de 2mL
- Mettre dans le QIAcube avec la protéinase K, les buffers, l'éthanol et les tips.

<u>Programmes</u>:

- DNA
- Fast DNAstool

Annexe 3. Liste des espèces sorties de « UNITE community »

Famille	Genre	Espèce
f:Orchidaceae	g:Acianthus	s:Acianthus bracteatus
f:Lejeuneaceae	g:Acrolejeunea	s:Acrolejeunea pycnoclada
f:Funariaceae	g:Afoninia	s:Afoninia dahurica
f:Poaceae	g:Agrostis	s:Agrostis gigantea
f:Arecaceae	g:Aiphanes	s:Aiphanes hirsuta
f:Boraginaceae	g:Alkanna	s:Alkanna pinardii
f:Araceae	g:Amorphophallus	s:Amorphophallus harmandii
f:Anastrophyllaceae	g:Anastrophyllum	s:Anastrophyllum michauxii
f:Boraginaceae	g:Anchusella	s:Anchusella cretica
f:Ancistrocladaceae	g:Ancistrocladus	s:Ancistrocladus tectorius
f:Fabaceae	g:Andira	s:Andira macrothyrsa
f:Apiaceae	g:Angelica	s:Angelica japonica
f:Gentianaceae	g:Anthocleista	s:Anthocleista grandiflora
f:Aponogetonaceae	g:Aponogeton	s:Aponogeton bruggenii
f:Aponogetonaceae	g:Aponogeton	s:Aponogeton distachyos
f:Asteraceae	g:Arctium	s:Arctium minus
f:Caryophyllaceae	g:Arenaria	s:Arenaria debilis
f:Caryophyllaceae	g:Arenaria	s:Arenaria rhodia
f:Poaceae	g:Arrhenatherum	s:Arrhenatherum calderae
f:Apiaceae	g:Artedia	s:Artedia squamata
f:Moraceae	g:Artocarpus	s:Artocarpus altilis
f:Moraceae	g:Artocarpus	s:Artocarpus mariannensis
f:Brassicaceae	g:Asperuginoides	s:Asperuginoides axillaris
f:Alismataceae	g:Astonia	s:Astonia australiensis
f:Fabaceae	g:Astragalus	s:Astragalus alpinus
f:Chenopodiaceae	g:Atriplex	s:Atriplex halimus
f:Acanthaceae	g:Avicennia	s:Avicennia germinans
f:Apiaceae	g:Azorella	s:Azorella madreporica
f:Apiaceae	g:Azorella	s:Azorella patagonica
f:Arecaceae	g:Bactris	s:Bactris campestris
f:Arecaceae	g:Bactris	s:Bactris ferruginea
f:Neckeraceae	g:Baldwiniella	s:Baldwiniella kealeensis
f:Begoniaceae	g:Begonia	s:Begonia fallax

f:Begoniaceae	g:Begonia	s:Begonia formosana x Begonia aptera
f:Melastomataceae	g:Blastus	s:Blastus cochinchinensis
f:Asteraceae	g:Blepharispermum	s:Blepharispermum villosum
f:Fabaceae	g:Bossiaea	s:Bossiaea carinalis
f:Fabaceae	g:Bossiaea	s:Bossiaea riparia
f:Orchidaceae	g:Bulbophyllum	s:Bulbophyllum lobbii
f:Orchidaceae	g:Bulbophyllum	s:Bulbophyllum saltatorium
f:Theaceae	g:Camellia	s:Camellia oleifera
f:Theaceae	g:Camellia	s:Camellia sinensis
f:Campanulaceae	g:Campanula	s:Campanula reatina
f:Leucobryaceae	g:Campylopus	s:Campylopus introflexus
f:Leucobryaceae	g:Campylopus	s:Campylopus oerstedianus
f:Cannaceae	g:Canna	s:Canna indica
f:Cyperaceae	g:Carex	s:Carex neesii
f:Caricaceae	g:Carica	s:Carica papaya
f:Proteaceae	g:Carnarvonia	s:Carnarvonia araliifolia
f:Saxifragaceae	g:Cascadia	s:Cascadia nuttallii
f:Fagaceae	g:Castanopsis	s:Castanopsis fargesii
f:Vitaceae	g:Cayratia	s:Cayratia debilis
f:Vitaceae	g:Cayratia	s:Cayratia triternata
f:Malvaceae	g:Ceiba	s:Ceiba pentandra
f:Cephaloziaceae	g:Cephalozia	s:Cephalozia conchata
f:Caryophyllaceae	g:Cerastium	s:Cerastium subtriflorum
f:Fabaceae	g:Chamaecrista	s:Chamaecrista campestris
f:Fabaceae	g:Chamaecrista	s:Chamaecrista confertiformis
f:Fabaceae	g:Chamaecrista	s:Chamaecrista flexuosa
f:Rubiaceae	g:Chassalia	s:Chassalia parvifolia
f:Gentianaceae	g:Chelonanthus	s:Chelonanthus viridiflorus
f:Chenopodiaceae	g:Chenopodiastrum	s:Chenopodiastrum murale
f:Chlamydomonadaceae	g:Chlamydomonas	s:Chlamydomonas moewusii
f:Asteraceae	g:Chlamydophora	s:Chlamydophora tridentata
f:NA	g:Chloroidium	s:Chloroidium engadinense
f:NA	g:Chloroidium	s:Chloroidium saccharophilum
f:Asparagaceae	g:Chlorophytum	s:Chlorophytum arundinaceum
f:Asteraceae	g:Chrysolaena	s:Chrysolaena lithospermifolia
f:Asteraceae	g:Chrysothamnus	s:Chrysothamnus eremobius

f:Asteraceae	g:Cicerbita	s:Cicerbita macrophylla
f:Asteraceae	g:Cirsium	s:Cirsium neomexicanum
f:Rutaceae	g:Citrus	s:Citrus aurantium
f:Loranthaceae	g:Cladocolea	s:Cladocolea mcvaughii
f:Rosaceae	g:Cliffortia	s:Cliffortia ruscifolia
f:NA	g:Coccomyxa	s:Coccomyxa subellipsoidea
f:Lejeuneaceae	g:Cololejeunea	s:Cololejeunea paniensis
f:Lejeuneaceae	g:Colura	s:Colura leratii
f:Chlorellaceae	g:Compactochlorella	s:Compactochlorella dohrmannii
f:Melastomataceae	g:Conostegia	s:Conostegia xalapensis
f:Myrtaceae	g:Corymbia	s:Corymbia variegata
f:Grimmiaceae	g:Coscinodon	s:Coscinodon cribrosus
f:Desmidiaceae	g:Cosmarium	s:Cosmarium angulosum
f:Costaceae	g:Costus	s:Costus talbotii
f:Iridaceae	g:Crocus	s:Crocus hyemalis
f:Euphorbiaceae	g:Croton	s:Croton aff. pachypodus BWvE-2008
f:Euphorbiaceae	g:Croton	s:Croton roxburghii
f:Boraginaceae	g:Cryptantha	s:Cryptantha flaccida
f:Cucurbitaceae	g:Cucurbita	s:Cucurbita lundelliana
f:Sapindaceae	g:Cupania	s:Cupania cinerea
f:Cupressaceae	g:Cupressus	s:Cupressus sempervirens
f:Orchidaceae	g:Cymbidium	s:Cymbidium serratum
f:Boraginaceae	g:Cynoglossum	s:Cynoglossum creticum
f:Orchidaceae	g:Cypripedium	s:Cypripedium calceolus
f:Fabaceae	g:Dalbergia	s:Dalbergia afzeliana
f:Daltoniaceae	g:Daltonia	s:Daltonia marginata
f:Fabaceae	g:Daniellia	s:Daniellia ogea
f:Lardizabalaceae	g:Decaisnea	s:Decaisnea insignis
f:Orchidaceae	g:Dendrobium	s:Dendrobium capillipes
f:Orchidaceae	g:Dendrobium	s:Dendrobium crumenatum
f:Orchidaceae	g:Dendrobium	s:Dendrobium henryi
f:Orchidaceae	g:Dendrobium	s:Dendrobium smillieae
f:Fabaceae	g:Derris	s:Derris glabra
f:Scenedesmaceae	g:Desmodesmus	s:Desmodesmus communis
f:Dicranaceae	g:Dicranum	s:Dicranum pacificum
f:Lythraceae	g:Didiplis	s:Didiplis diandra

f:Pottiaceae	g:Didymodon	s:Didymodon tophaceus
f:Pottiaceae	g:Didymodon	s:Didymodon trivialis
f:Asteraceae	g:Diodontium	s:Diodontium filifolium
f:Lejeuneaceae	g:Diplasiolejeunea	s:Diplasiolejeunea alata
f:Orchidaceae	g:Diploprora	s:Diploprora championii
f:Orchidaceae	g:Discyphus	s:Discyphus scopulariae
f:Asparagaceae	g:Dracaena	s:Dracaena cochinchinensis
f:Hyacinthaceae	g:Drimia	s:Drimia coromandeliana
f:Hyacinthaceae	g:Drimia	s:Drimia govindappae
f:Crassulaceae	g:Dudleya	s:Dudleya gnoma
f:Asteraceae	g:Duhaldea	s:Duhaldea nervosa
f:Dumortieraceae	g:Dumortiera	s:Dumortiera hirsuta
f:Asteraceae	g:Echinops	s:Echinops pungens
f:Urticaceae	g:Elatostema	s:Elatostema laevissimum
f:Hyacinthaceae	g:Eliokarmos	s:Eliokarmos bicornutus
f:Funariaceae	g:Entosthodon	s:Entosthodon obtusus
f:Ephedraceae	g:Ephedra	s:Ephedra viridis
f:Orchidaceae	g:Epiblema	s:Epiblema grandiflorum
f:Oocystaceae	g:Eremosphaera	s:Eremosphaera viridis
f:Ericaceae	g:Erica	s:Erica angulosa
f:Asteraceae	g:Erigeron	s:Erigeron arenarioides
f:Polygonaceae	g:Eriogonum	s:Eriogonum arizonicum
f:Euphorbiaceae	g:Euphorbia	s:Euphorbia eglandulosa
f:Euphorbiaceae	g:Euphorbia	s:Euphorbia herrei
f:Euphorbiaceae	g:Euphorbia	s:Euphorbia hyssopifolia
f:Euphorbiaceae	g:Euphorbia	s:Euphorbia nubica
f:Santalaceae	g:Exocarpos	s:Exocarpos cupressiformis
f:Zygophyllaceae	g:Fagonia	s:Fagonia gypsophila
f:Gentianaceae	g:Fagraea	s:Fagraea crenulata
f:Fagaceae	g:Fagus	s:Fagus hayatae
f:Asteraceae	g:Felicia	s:Felicia fascicularis
f:Poaceae	g:Festuca	s:Festuca rubra
f:Moraceae	g:Ficus	s:Ficus aspera
f:Moraceae	g:Ficus	s:Ficus benjamina
f:Moraceae	g:Ficus	s:Ficus botryoides
f:Moraceae	g:Ficus	s:Ficus brachypoda

f:Moraceae	g:Ficus	s:Ficus congensis
f:Moraceae	g:Ficus	s:Ficus densifolia
f:Moraceae	g:Ficus	s:Ficus dicranostyla
f:Moraceae	g:Ficus	s:Ficus exasperata
f:Moraceae	g:Ficus	s:Ficus nigropunctata
f:Moraceae	g:Ficus	s:Ficus platyphylla
f:Moraceae	g:Ficus	s:Ficus reflexa
f:Moraceae	g:Ficus	s:Ficus robusta
f:Moraceae	g:Ficus	s:Ficus semivestita
f:Moraceae	g:Ficus	s:Ficus sur
f:Moraceae	g:Ficus	s:Ficus tiliifolia
f:Moraceae	g:Ficus	s:Ficus tremula
f:Moraceae	g:Ficus	s:Fieus trichopoda
f:Grimmiaceae	g:Frisvollia	s:Frisvollia varia
f:Liliaceae	g:Fritillaria	s:Fritillaria davidii
f:Frullaniaceae	g:Frullania	s:Frullania parvistipula
f:Frullaniaceae	g:Frullania	s:Frullania polysticta
f:Cephaloziaceae	g:Fuscocephaloziopsis	s:Fuscocephaloziopsis catenulata
f:Clusiaceae	g:Garcinia	s:Garcinia celebica
f:Asteraceae	g:Geigeria	s:Geigeria brevifolia
f:Orchidaceae	g:Genoplesium	s:Genoplesium baueri
f:Rubiaceae	g:Geophila	s:Geophila tenuis
f:Geraniaceae	g:Geranium	s:Geranium versicolor
f:Rosaceae	g:Geum	s:Geum speciosum
f:Fabaceae	g:Glycine	s:Glycine hirticaulis
f:Amaranthaceae	g:Gomphrena	s:Gomphrena sonorae
f:Asteraceae	g:Gorteria	s:Gorteria integrifolia
f:Grimmiaceae	g:Grimmia	s:Grimmia funalis
f:Grimmiaceae	g:Grimmia	s:Grimmia macroperichaetialis
f:Griseliniaceae	g:Griselinia	s:Griselinia littoralis
f:Gunneraceae	g:Gunnera	s:Gunnera magellanica
f:Pottiaceae	g:Gymnobarbula	s:Gymnobarbula bicolor
f:Caryophyllaceae	g:Gymnocarpos	s:Gymnocarpos decander
f:Orchidaceae	g:Habenaria	s:Habenaria heringeri
f:Rubiaceae	g:Haldina	s:Haldina cordifolia
f:Asteraceae	g:Haplocarpha	s:Haplocarpha nervosa

f:Asteraceae	g:Haplocarpha	s:Haplocarpha rueppellii
f:Rubiaceae	g:Hedyotis	s:Hedyotis shenzhenensis
f:Asteraceae	g:Helenium	s:Helenium flexuosum
f:Asparagaceae	g:Hesperaloe	s:Hesperaloe parviflora
f:Orchidaceae	g:Homalopetalum	s:Homalopetalum pumilum
f:Poaceae	g:Hordeum	s:Hordeum vulgare
f:NA	g:Hormidiella	s:Hormidiella parvula
f:Saururaceae	g:Houttuynia	s:Houttuynia cordata
f:Fabaceae	g:Humularia	s:Humularia kapiriensis
f:Hypericaceae	g:Hypericum	s:Hypericum roeperianum
f:Hypnaceae	g:Hypnum	s:Hypnum cupressiforme
f:Lamiaceae	g:Hyptis	s:Hyptis pulegioides
f:Aquifoliaceae	g:Ilex	s:Ilex spicata
f:Balsaminaceae	g:Impatiens	s:Impatiens baroni
f:Balsaminaceae	g:Impatiens	s:Impatiens lawii
f:Balsaminaceae	g:Impatiens	s:Impatiens levingei
f:Balsaminaceae	g:Impatiens	s:Impatiens oppositifolia
f:Fabaceae	g:Indigofera	s:Indigofera podocarpa
f:Convolvulaceae	g:Ipomoea	s:Ipomoea oranensis
f:Convolvulaceae	g:Ipomoea	s:Ipomoea sumatrana
f:Convolvulaceae	g:Ipomoea	s:Ipomoea x leucantha
f:Amaranthaceae	g:Iresine	s:Iresine interrupta
f:Iridaceae	g:Iris	s:Iris laevigata
f:Isoetaceae	g:Isoetes	s:Isoetes lacustris
f:NA	g:Jaagichlorella	s:Jaagichlorella roystonensis
f:NA	g:Jaagichlorella	s:Jaagichlorella sphaerica
f:Jungermanniaceae	g:Jungermannia	s:Jungermannia atrovirens
f:Crassulaceae	g:Kalanchoe	s:Kalanchoe stearnii
f:Chenopodiaceae	g:Kaviria	s:Kaviria vvedenskyi
f:Asphodelaceae	g:Kumara	s:Kumara haemanthifolia
f:Arecaceae	g:Laccosperma	s:Laccosperma opacum
f:Lecythidaceae	g:Lecythis	s:Lecythis pisonis
f:Lejeuneaceae	g:Lejeunea	s:Lejeunea lomana
f:Lejeuneaceae	g:Lejeunea	s:Lejeunea ulicina
f:Asteraceae	g:Leontodon	s:Leontodon tenuiflorus
f:Zamiaceae	g:Lepidozamia	s:Lepidozamia peroffskyana

f:Lepidoziaceae	g:Lepidozia	s:Lepidozia microphylla
f:Fabaceae	g:Leptolobium	s:Leptolobium bijugum
f:Fabaceae	g:Leptospron	s:Leptospron adenanthum
f:Leucobryaceae	g:Leucobryum	s:Leucobryum giganteum
f:Leucodontaceae	g:Leucodon	s:Leucodon coreensis
f:Asteraceae	g:Leucogenes	s:Leucogenes leontopodium
f:Asteraceae	g:Libinhania	s:Libinhania balfourii
f:Liliaceae	g:Lilium	s:Lilium longiflorum
f:Plumbaginaceae	g:Limonium	s:Limonium caesium
f:Plumbaginaceae	g:Limonium	s:Limonium iranicum
f:Scrophulariaceae	g:Limosella	s:Limosella grandiflora
f:Poaceae	g:Lolium	s:Lolium canariense
f:Poaceae	g:Lolium	s:Lolium multiflorum
f:Caprifoliaceae	g:Lonicera	s:Lonicera macranthoides
f:Loranthaceae	g:Loranthus	s:Loranthus grewingkii
f:Lygodiaceae	g:Lygodium	s:Lygodium microphyllum
f:Anacardiaceae	g:Mangifera	s:Mangifera camptosperma
f:Anacardiaceae	g:Mangifera	s:Mangifera indica
f:Anacardiaceae	g:Mangifera	s:Mangifera laurina
f:Anacardiaceae	g:Mangifera	s:Mangifera odorata
f:Sapotaceae	g:Manilkara	s:Manilkara lacera
f:Sapotaceae	g:Manilkara	s:Manilkara zapota
f:Lejeuneaceae	g:Marchesinia	s:Marchesinia robusta
f:Orchidaceae	g:Maxillaria	s:Maxillaria barbosae
f:Orchidaceae	g:Maxillaria	s:Maxillaria ramonensis
f:Acanthaceae	g:Megaskepasma	s:Megaskepasma erythrochlamys
f:Asteraceae	g:Melanoseris	s:Melanoseris polyclada
f:Jungermanniaceae	g:Mesoptychia	s:Mesoptychia sahlbergii
f:Saxifragaceae	g:Micranthes	s:Micranthes lyallii
f:Cupressaceae	g:Microbiota	s:Microbiota decussata
f:Zamiaceae	g:Microcycas	s:Microcycas calocoma
f:Moraceae	g:Milicia	s:Milicia excelsa
f:Caryophyllaceae	g:Minuartia	s:Minuartia hamata
f:Polygalaceae	g:Muraltia	s:Muraltia crassifolia
f:Mychonastaceae	g:Mychonastes	s:Mychonastes timauensis
f:Plumbaginaceae	g:Myriolimon	s:Myriolimon ferulaceum

f:Moraceae	g:Ficus	s:NA
f:Amaryllidaceae	g:Narcissus	s:Narcissus hispanicus
f:Neckeraceae	g:Neckeropsis	s:Neckeropsis gracilis
f:Myrtaceae	g:Neomitranthes	s:Neomitranthes pereireana
f:Proteaceae	g:Neorites	s:Neorites kevedianus
f:NA	g:Nephroselmis	s:Nephroselmis rotunda
f:Brassicaceae	g:Nerisyrenia	s:Nerisyrenia linearifolia
f:Grimmiaceae	g:Niphotrichum	s:Niphotrichum canescens
f:Nitrariaceae	g:Nitraria	s:Nitraria tangutorum
f:Amaranthaceae	g:Nitrophila	s:Nitrophila occidentalis
f:Orchidaceae	g:Notylia	s:Notylia barkeri
f:Resedaceae	g:Ochradenus	s:Ochradenus arabicus
f:Cephaloziaceae	g:Odontoschisma	s:Odontoschisma macounii
f:Asteraceae	g:Oedera	s:Oedera squarrosa
f:Onagraceae	g:Oenothera	s:Oenothera canescens
f:Gesneriaceae	g:Oreocharis	s:Oreocharis dasyantha
f:Apiaceae	g:Oreocomopsis	s:Oreocomopsis stelliphora
f:Orobanchaceae	g:Orthocarpus	s:Orthocarpus purpureoalbus
f:Orthotrichaceae	g:Orthotrichum	s:Orthotrichum hyperboreum
f:Plantaginaceae	g:Ourisia	s:Ourisia muscosa
f:Oxalidaceae	g:Oxalis	s:Oxalis psammophila
f:Asteraceae	g:Ozothamnus	s:Ozothamnus secundiflorus
f:Poaceae	g:Panicum	s:Panicum coloratum
f:Meteoriaceae	g:Papillaria	s:Papillaria crocea
f:Asteraceae	g:Parasenecio	s:Parasenecio phyllolepis
f:Cactaceae	g:Parodia	s:Parodia leninghausii
f:Poaceae	g:Parodiolyra	s:Parodiolyra ramosissima
f:Fabaceae	g:Parryella	s:Parryella filifolia
f:Orobanchaceae	g:Pedicularis	s:Pedicularis brachystachys
f:Orobanchaceae	g:Pedicularis	s:Pedicularis floribunda
f:Orobanchaceae	g:Pedicularis	s:Pedicularis pygmaea
f:Caryophyllaceae	g:Petrocoptis	s:Petrocoptis grandiflora
f:Fabaceae	g:Phaseolus	s:Phaseolus albescens
f:Orchidaceae	g:Phragmipedium	s:Phragmipedium schlimii
f:Amaryllidaceae	g:Phycella	s:Phycella bicolor
f:Phyllanthaceae	g:Phyllanthus	s:Phyllanthus chrysanthus

f:Orchidaceae	g:Phymatidium	s:Phymatidium delicatulum
f:Campanulaceae	g:Phyteuma	s:Phyteuma nigrum
f:Urticaceae	g:Pilea	s:Pilea herniarioides
f:Urticaceae	g:Pilea	s:Pilea sinofasciata
f:Thymelaeaceae	g:Pimelea	s:Pimelea curviflora
f:Lentibulariaceae	g:Pinguicula	s:Pinguicula alpina
f:Piperaceae	g:Piper	s:Piper cinereum
f:Passifloraceae	g:Piriqueta	s:Piriqueta viscosa
f:Plagiochilaceae	g:Plagiochila	s:Plagiochila fusca
f:Orchidaceae	g:Platanthera	s:Platanthera roseotincta
f:Cupressaceae	g:Platycladus	s:Platycladus orientalis
f:Polygonaceae	g:Podopterus	s:Podopterus cordifolius
f:Podostemaceae	g:Podostemum	s:Podostemum ceratophyllum
f:Lamiaceae	g:Pogostemon	s:Pogostemon aquaticus
f:Polygalaceae	g:Polygala	s:Polygala hygrophila
f:Polygalaceae	g:Polygala	s:Polygala japonica
f:Polygalaceae	g:Polygala	s:Polygala tuberculata
f:Orchidaceae	g:Ponerorchis	s:Ponerorchis chusua
f:Portulacaceae	g:Portulaca	s:Portulaca digyna
f:Apocynaceae	g:Prestonia	s:Prestonia denticulata
f:Chlorellaceae	g:Pseudochlorella	s:Pseudochlorella subsphaerica
f:Neckeraceae	g:Pseudoparaphysanthus	s:Pseudoparaphysanthus takahashii
f:Taxaceae	g:Pseudotaxus	s:Pseudotaxus chienii
f:Amaranthaceae	g:Ptilotus	s:Ptilotus murrayi
f:Fabaceae	g:Pultenaea	s:Pultenaea tarik
f:Fagaceae	g:Quercus	s:Quercus chapmanii
f:Ranunculaceae	g:Ranunculus	s:Ranunculus repens
f:Apocynaceae	g:Rauvolfia	s:Rauvolfía tetraphylla
f:Lejeuneaceae	g:Rectolejeunea	s:Rectolejeunea truncatilobula
f:Resedaceae	g:Reseda	s:Reseda sphenocleoides
f:Ericaceae	g:Rhododendron	s:Rhododendron mackenzianum
f:Ericaceae	g:Rhododendron	s:Rhododendron meridionale
f:Rhytidiaceae	g:Rhytidium	s:Rhytidium rugosum
f:Ripogonaceae	g:Ripogonum	s:Ripogonum album
f:Rosaceae	g:Rosa	s:Rosa hybrid cultivar
f:Poaceae	g:Rugoloa	s:Rugoloa pilosa

f:Asteraceae	g:Ruilopezia	s:Ruilopezia jahnii
f:Poaceae	g:Saccharum	s:Saccharum hybrid cultivar
f:Polygalaceae	g:Salomonia	s:Salomonia cantoniensis
f:Apiaceae	g:Sanicula	s:Sanicula gregaria
f:Phyllanthaceae	g:Sauropus	s:Sauropus paucifolius
f:Asteraceae	g:Saussurea	s:Saussurea elegans
f:Grimmiaceae	g:Schistidium	s:Schistidium papillosum
f:Cyperaceae	g:Scleria	s:Scleria secans
f:Poaceae	g:Secale	s:Secale cereale
f:Selaginellaceae	g:Selaginella	s:Selaginella utahensis
f:Anacardiaceae	g:Semecarpus	s:Semecarpus parvifolia
f:Asteraceae	g:Senecio	s:Senecio jacobsenii
f:Asteraceae	g:Senecio	s:Senecio leucanthemifolius
f:Fabaceae	g:Sesbania	s:Sesbania brachycarpa
f:Sapotaceae	g:Sideroxylon	s:Sideroxylon floribundum
f:Asteraceae	g:Sigesbeckia	s:Sigesbeckia orientalis
f:Caryophyllaceae	g:Silene	s:Silene reinholdii
f:Asteraceae	g:Simsia	s:Simsia benziorum
f:Smilacaceae	g:Smilax	s:Smilax moranensis
f:Anacardiaceae	g:Spondias	s:Spondias mombin
f:Poaceae	g:Sporobolus	s:Sporobolus scabridus
f:Poaceae	g:Sporobolus	s:Sporobolus splendens
f:Desmidiaceae	g:Staurodesmus	s:Staurodesmus mamillatus
f:Orchidaceae	g:Stelis	s:Stelis deregularis
f:Poaceae	g:Stephanachne	s:Stephanachne nigrescens
f:Malvaceae	g:Sterculia	s:Sterculia nobilis
f:Brassicaceae	g:Sterigmostemum	s:Sterigmostemum ramosissimum
f:Orchidaceae	g:Stichorkis	s:Stichorkis gibbosa
f:Chenopodiaceae	g:Suaeda	s:Suaeda australis
f:Myrtaceae	g:Syzygium	s:Syzygium aqueum
f:Myrtaceae	g:Syzygium	s:Syzygium samarangense
f:Asteraceae	g:Tagetes	s:Tagetes subulata
f:Cupressaceae	g:Taiwania	s:Taiwania cryptomerioides
f:Lepidoziaceae	g:Telaranea	s:Telaranea pallescens
f:Combretaceae	g:Terminalia	s:Terminalia catappa
f:Combretaceae	g:Terminalia	s:Terminalia mantaly

f:Anastrophyllaceae	g:Tetralophozia	s:Tetralophozia filiformis
f:Orchidaceae	g:Tipularia	s:Tipularia discolor
f:Taxaceae	g:Torreya	s:Torreya nucifera
f:Pottiaceae	g:Tortula	s:Tortula muralis
f:Lepidoziaceae	g:Tricholepidozia	s:Tricholepidozia martinii
f:Fabaceae	g:Trifolium	s:Trifolium repens
f:Juncaginaceae	g:Triglochin	s:Triglochin compacta
f:Poaceae	g:Triticum	s:Triticum timopheevii
f:Poaceae	g:Triticum	s:Triticum turgidum
f:Orchidaceae	g:Tropidia	s:Tropidia graminea
f:Liliaceae	g:Tulipa	s:Tulipa orphanidea
f:Theaceae	g:Tutcheria	s:Tutcheria kweichowensis
f:Apocynaceae	g:Tylophora	s:Tylophora sylvatica
f:Lauraceae	g:Actinodaphne	s:unknown Actinodaphne
f:Amaryllidaceae	g:Allium	s:unknown Allium
f:Siphonocladaceae	g:Boodlea	s:unknown Boodlea
f:NA	g:NA	s:unknown Chlamydomonadales
f:Chlamydomonadaceae	g:Chlamydomonas	s:unknown Chlamydomonas
f:Orchidaceae	g:Clowesia	s:unknown Clowesia
f:Dilleniaceae	g:Davilla	s:unknown Davilla
f:Euphorbiaceae	g:Euphorbia	s:unknown Euphorbia
f:Orchidaceae	g:Eurystyles	s:unknown Eurystyles
f:Lepidoziaceae	g:Lepidozia	s:unknown Lepidozia
f:Oleaceae	g:Noronhia	s:unknown Noronhia
f:Rosaceae	g:Rubus	s:unknown Rubus
f:Scenedesmaceae	g:Scenedesmus	s:unknown Scenedesmus
f:Trebouxiaceae	g:Trebouxia	s:unknown Trebouxia
f:NA	g:Watanabea	s:unknown Watanabea
f:Urticaceae	g:Urtica	s:Urtica dioica
f:Urticaceae	g:Urtica	s:Urtica thunbergiana
f:Caprifoliaceae	g:Valeriana	s:Valeriana radicalis
f:Fabaceae	g:Vataireopsis	s:Vataireopsis surinamensis
f:Verbenaceae	g:Verbena	s:Verbena rigida
f:Fabaceae	g:Vicia	s:Vicia galeata
f:Menyanthaceae	g:Villarsia	s:Villarsia violifolia
f:Violaceae	g:Viola	s:Viola tricolor

f:Viscaceae	g:Viscum	s:Viscum cuneifolium
f:Chlamydomonadaceae	g:Vitreochlamys	s:Vitreochlamys ordinata
f:Orchidaceae	g:Waireia	s:Waireia stenopetala
f:Fabaceae	g:Wajira	s:Wajira danissana
f:Rutaceae	g:Zanthoxylum	s:Zanthoxylum mollissimum
f:Orchidaceae	g:Zootrophion	s:Zootrophion vulturiceps

Annexe 4. Liste d'espèces sorties de la base de donnée personnelle

Fabaceae	Acacia	Acacia mangium
Bombaceae	Adansonia	Adansonia digitata
Bombaceae	Adansonia	Adansonia gibbosa
Bombaceae	Adansonia	Adansonia madagascariensis
Bombaceae	Adansonia	Adansonia za
Passifloraceae	Adenia	Adenia cissampeloides
Fabaceae	albizia	Albizia kalkora
Fabaceae	albizia	Albizia saponaria
Anacardiaceae	Anacardium	Anacardium occidentale
Annonaceae	Annona	Annona squamosa
Gentianaceae	Anthocleista	Anthocleista grandiflora
Gentianaceae	Anthocleista	Anthocleista vogelii
Moraceae	Antiaris	Antiaris toxicaria
Moraceae	Artocarpus	Artocarpus brevipedunculatus
Moraceae	Artocarpus	Artocarpus odoratissimus
Moraceae	Artocarpus	Artocarpus teysmannii
Meliaceae	Azadirachta	Azadirachta indica
Zygophyllaceae	Balanites	Balanites maughamii
Malvaceae	Bombax	Bombax malabaricum
Phyllanthaceae	Bridelia	Bridelia cathartica
Phyllanthaceae	Bridelia	Bridelia micrantha
Phyllanthaceae	Bridelia	Bridelia scleroneura
Caricaceae	Carica	Carica papaya
Malvaceae	Ceiba	Ceiba pentadra
Cannabaceae	Celtis	Celtis kunmingensis
Cordiaceae	Cordia	Cordia revoluta
Fabaceae	Danieillia	Daniellia oliveri
Ebenaceae	Diospyros	Diospyros miaoshanica
Ebenaceae	Diospyros	Diospyros virginiana
Asparagaceae	Dracaena	Dracaena cochinchinensis
Asparagaceae	Dracaena	Dracaena marginata
Meliaceae	Ekebergia	Ekebergia capensis
Arecaceae	Elaeis	Elaeis guineensis
Rosaceae	Eriobotrya	Eriobotrya japonica
Fabaceae	Erythrina	Erythrina crista-galli

Myrtaceae	Eucalyptus	Eucalyptus maidenii
Myrtaceae	Eucalyptus	Eucalyptus perriniana
Myrtaceae	Eucalyptus	Eucalyptus spectatrix
Ebenaceae	Euclea	Euclea coriacea
Ebenaceae	Euclea	Euclea divinorum
Myrtaceae	Eugenia	Eugenia capensis
Moraceae	Ficus	Ficus benjamina
Moraceae	Ficus	Ficus benjamina
Moraceae	Ficus	Ficus burkei
Moraceae	Ficus	Ficus exasperata
Moraceae	Ficus	Ficus lutea
Moraceae	Ficus	Ficus lyrata
Moraceae	Ficus	Ficus natalensis
Moraceae	Ficus	Ficus ovata
Moraceae	Ficus	Ficus polita
Moraceae	Ficus	Ficus pumila
Moraceae	Ficus	Ficus scott-elliotii
Moraceae	Ficus	Ficus sur
Moraceae	Ficus	Ficus thonningii
Moraceae	Ficus	Ficus trichopoda
Moraceae	Ficus	Ficus trichopoda
Moraceae	Ficus	Ficus umbellata
Stilbaceae	Halleria	Halleria lucida
Anacardiaceae	Harpephyllum	Harpephyllum caffrum
Bignoniaceae	Kigelia	Kigelia africana
Sapindaceae	Litchi	Litchi chinensis
Chrysobalanaceae	Magnistipula	Magnistipula butayeii
Anacardiaceae	Mangifera	Mangifera andamanica
Anacardiaceae	Mangifera	Mangifera indica
Anacardiaceae	Mangifera	Mangifera zeylanica
Chrysobalanaceae	Maranthes	Maranthes glabra
Meliaceae	Melia	Melia azedarach
Cucurbitaceae	Melothria	Melothria domingensis
Cucurbitaceae	Melothria	Melothria pendula
Moraceae	Milicia	Milicia excelsa
Sapotaceae	Mimusops	Mimusops caffra

Musaceae	Musa	Musa acuminata x Musa schizocarpa
Musaceae	Musa	Musa Fehi
Urticaceae	Myrianthus	Myrianthus holstii
Malvaceae	Ochroma	Ochroma pyramidale
Chrysobalanaceae	Parinari	Parinari campestris
Chrysobalanaceae	Parinari	Parinari excelsa
Fabaceae	Parkia	Parkia platycephala
Fabaceae	Parkia	Parkia timoriana
Passifloraceae	Passiflora	Passiflora quadrangularis
Lauraceae	Persea	Persea americana
Lauraceae	Persea	Persea weberbaueri
Lauraceae	Persea	Persea willdenovii
Podocarpaceae	Podocarpus	Podocarpus latifolius
Rosaceae	Prunus	Prunus africana
Myrtaceae	Psidium	Psidium guajava
Apocunaceae	Rauvolfia	Rauvolfia micrantha
Apocunaceae	Rauvolfia	Rauvolfia verticillata
Sapotaceae	Sideroxylon	Sideroxylon inerme
Solanaceae	Solanum	Solanum anomalum
Solanaceae	Solanum	Solanum torvum
Bignoniaceae	Spathodea	Spathodea campanulata
Malvaceae	Sterculia	Sterculia lanceolata
Malvaceae	Sterculia	Sterculia nobilis
Myrtaceae	Syzygium	Syzygium maire
Myrtaceae	Syzygium	Syzygium sp. Kajuik Lake
Myrtaceae	Syzygium	Syzygium wilsonii
Apocynaceae	Tabernaemontana	Tabernaemontana divaricata
Apocynaceae	Tabernaemontana	Tabernaemontana pandacaqui
Combretaceae	Terminalia	Terminalia catappa
Sterculiaceae	Theobroma	Theobroma cacao
Meliaceae	Trichilia	Trichilia emetica
Sapotaceae	Vitellaria	Vitellaria paradoxa
Lamiaceae	Vitex	Vitex doniana

Annexe 5.

Liste des genres non présents en Afrique

Acianthus, Actinodaphne, Aiphanes, Alstroemeria, Angelica, Artedia, Asperuginoides, Astonia, Azorella, Bactris, Blastus, Bossiaea, Bowdichia, Carnarvonia, Cascadia, Castanopsis, Chelonanthus, Chrysothamnus, Cicerbita, Cladocolea, Clowesia, Cryptantha, Cupana, Davilla, Decaisnea, Dendrobium, Didiplis, Diodontium, Diploprora, Didcyphus, Dudleya, Duhaldea, Encyclia, Epiblema, Eurystyles, Exocarpos, Fagreae, Fagus, Gagea, Genoplesium, Griselinia, Haldina, Helenium, Hesperaloe, Homalopetalum, Lecythis, Lepidozamia, Leptolobium, Lessingia, Leucobryum, Leucogenes, Loranthus, Maxillaria, Megaskepasma, Melanoseris, Micranthes, Microbiota, Microcycas, Neorites, Nerisyrenia, Nitrophila, Oreocharis, Oreocomopsis, Ortocarpus, Ourisia, Ozothamnus, Paphiopedilum, Parasenecia, Parodia, Prodiolyra, Parryella, Paysonia, Phragmipedium, Phycella, Phymatidium, Pimelea, Platycladus, Podopterus, Podostemum, Ponerorchis, Prestonia, Pseudotaxus, Ptilotus, Pultenaea, Rhododendron, Ripogonum, Rugoloa, Ruilopezia, Salomonia, Saussurea, Secale, Semecarpus, Silene, Simsia, Stelis, Stephanachne, Sterigmistemum, Stichorkis, Taiwania, Tipularia, Torreya, Tropidia, Tutcheria, Valeriana, Vataireopsis, Waireia et Zootrophion.