



FÉDÉRATION MYCOLOGIQUE ET BOTANIQUE DAUPHINÉ-SAVOIE

Fondée le 14 février 1960 (déclaration 5 mars 1960 – JO du 10 mars 1960)

Reconnue d'utilité publique par décret ministériel en date du 24 avril 1972 (JO du 2 mai 1972)

Siège : 1 place Jean Jaurès 74100 Annemasse

Service de séquençage

La FMBDS propose un **service de séquençage** de champignons en partenariat avec le laboratoire MYCEA. Ce service consiste à transmettre des échantillons de champignon afin d'obtenir une ou plusieurs séquences ADN des espèces correspondantes. Il est ainsi possible d'obtenir des séquences de type ITS ou LSU, voire d'autres gènes, selon vos besoins d'identification ou d'étude phylogénétique.

Tout adhérent actif d'une association membre de la FMBDS peut bénéficier de ce service. La FMBDS se charge de facturer l'association, une fois par trimestre, pour l'ensemble des séquences fournies par le laboratoire. L'association refacturera alors la ou les personnes concernées par les travaux de séquençage.

Les **échantillons envoyés doivent être secs**, placés dans des sachets fermés hermétiquement, et contenir suffisamment de « matière » (env. 1 cm³) pour optimiser les chances de succès. Ils doivent être étiquetés lisiblement pour permettre leur identification (nom de travail, numéro d'herbier, etc.) et porter mention du type de séquence souhaité (ITS, LSU, etc.). Le paquet doit contenir l'identification de la personne et le nom de l'association mycologique à laquelle il adhère. Une copie de la liste des échantillons transmis doit être adressée au référent de la FMBDS chargé de coordonner ce service : nvanvooren@fmbds.org

Il est rappelé qu'il est notoire que toute opération de séquençage comporte un **risque d'échec ou d'erreur**. Ce risque est notamment plus élevé pour des récoltes âgées de plus de 10 ans ou pour lesquelles la conservation a conduit au développement d'autres organismes (moisissures, levures, etc.). Le laboratoire met en œuvre son savoir faire pour parvenir à un résultat, mais il ne peut pas le garantir. Les échecs de PCR ne sont pas facturés.

Le tarif proposé est de :

- 20 € TTC pour la première séquence
- 10 € TTC pour la seconde et les suivantes pour le même échantillon.

Exemple 1 : j'ai demandé un ITS pour l'échantillon A ; je paierai 20 € TTC.

Exemple 2 : j'ai demandé un ITS et un LSU pour l'échantillon A ; je paierai 30 € TTC.

Exemple 3 : j'ai demandé un ITS et un LSU pour l'échantillon A, et un ITS pour l'échantillon B ; je paierai 50 € TTC.

Ce tarif permet l'obtention de séquences sous forme d'un chromatogramme (fichier AB1) et sous forme lisible (fichier FASTA). Ce tarif ne comprend pas l'analyse et l'interprétation de la séquence.

Un **système de ristourne** est proposé pour réduire le prix du séquençage. Pour obtenir cette remise sur la facture finale, MYCEA demande aux associations de leur transmettre des champignons frais pour des travaux de R&D. Un protocole d'envoi est disponible (voir annexe). Si les conditions du

protocole sont respectées, un rabais de 10 € TTC par lot de champignons frais reçu et exploitable sera comptabilisé, déductible sur une prochaine facture.

Exemple :

Assoc. Z envoie :			PRIX TOTAL	REMISE	PRIX A PAYER
15-avr	12 échantillons à séquencer	1 seul gène (ITS)	240,00 €		
30-mai	15 lots de champignons frais	13 lots acceptés		130,00 €	
02-juin	3 échantillons à séquencer	2 gènes (ITS + LSU)	90,00 €		
30-juin	FACTURATION TRIMESTR.		330,00 €	130,00 €	200,00 €
			soit	11,11 €	par séquence

QUESTIONS / RÉPONSES

Est-ce que je peux envoyer mes échantillons directement au laboratoire ou dois-je passer par mon association ?

Vous pouvez envoyer directement au laboratoire, mais vous devez impérativement mentionner, avec votre envoi, le nom de votre association et transmettre une copie (par email) de la liste des échantillons au référent FMBDS qui fait le lien avec le laboratoire.

Suis-je limité dans le nombre d'échantillons à envoyer ?

Non, il n'y a pas de limite fixée. En cas d'envoi d'un très grand nombre d'échantillons, le délai de traitement peut être allongé.

Est-ce que je peux demander au laboratoire de me facturer directement ?

Non, le service fonctionne à travers votre association et la FMBDS, afin de limiter le nombre de factures à traiter et à suivre.

Est-ce que je dois payer les travaux au moment de l'envoi des échantillons ?

Non, les travaux sont payés une fois par trimestre, à réception de la facture, celle-ci prenant en compte toutes les séquences obtenues et les éventuelles ristournes.

Dans quel délai puis-je obtenir les résultats ?

Il faut compter une quinzaine de jours environ suivant la réception des échantillons. Le laboratoire peut également différer le traitement des échantillons s'il ne dispose pas d'au moins 15 échantillons cumulés (les vôtres et ceux provenant d'autres envois) pour lancer les travaux. En cas de retard important, vous êtes avertis.

Suis-je bien propriétaire des séquences obtenues ?

Oui, dès le règlement des factures correspondantes par vos soins. Par la suite, le dépôt éventuel des séquences dans une base de données publiques comme par exemple GenBank rend de fait les séquences libres de droit.

Comment puis-je exploiter les séquences obtenues ?

Les séquences fournies sont directement exploitables avec les logiciels adéquats. Par exemple, le fichier chromatogramme peut être lu avec le logiciel libre BioEdit. Le fichier FASTA est un fichier texte que vous pouvez lire avec n'importe quel éditeur de texte ou avec un logiciel destiné à réaliser un alignement de séquence (ex. MEGA, phylogeny.fr) ou permettant de comparer la séquence avec celles stockées dans une base de données publiques (ex. BLAST).

Comment puis-je interpréter les résultats obtenus ?

L'interprétation des résultats s'effectue généralement en réalisant une phylogénie à partir de votre séquence associées à des séquences analogues pour vérifier les parentés entre elles. Cette phylogénie doit bien entendu être mise en perspective avec la qualité des séquences utilisées, le contexte taxinomique du groupe étudié, etc. Ce travail n'est pas inclus dans le tarif de séquençage, mais le référent FMBDS peut vous proposer un service complémentaire selon vos besoins (tarification sur demande auprès de nvanvooren@fmbds.org).

A terme la FMBDS proposera une formation destinée à initier les personnes désireuses de réaliser elles-mêmes leurs analyses phylogénétiques.

Est-ce que je peux demander une autre séquence d'un échantillon déjà transmis ?

Le laboratoire conserve pendant 30 jours l'ADN extrait de chaque échantillon. Si votre demande s'effectue dans ce délai, une autre séquence peut être obtenue (tarif de 10 € TTC). Passé ce délai, il faudra renvoyer un morceau de l'échantillon (tarif de 20 € TTC).

Dois-je publier les résultats du séquençage, par exemple dans le bulletin trimestriel de la FMBDS ?

Il n'y a pas d'obligation à publier vos résultats, mais vous êtes invités à le faire si ces derniers peuvent apporter une contribution intéressante à la mycologie. De même, nous vous encourageons à publier les séquences dans une banque de données publiques pour les mettre à disposition de la communauté scientifique. Pensez-bien à conserver en herbier les récoltes que vous faites séquencer.

Pour obtenir la ristourne, puis-je envoyer au laboratoire n'importe quel champignon frais ?

Non, le protocole d'envoi de champignons frais fournit une liste d'espèces qu'il ne faut pas envoyer, le laboratoire disposant déjà suffisamment de souches pour ces espèces-là. Sinon, tout est possible dès lors que la quantité minimum est respectée (50 g) et que leur état est bon.

Les champignon frais envoyés doivent-ils obligatoirement être déterminés ?

Non, ce n'est pas une obligation, mais c'est souhaitable (au moins au niveau du genre). Le laboratoire se réserve tout de même le droit d'accepter ou de refuser un échantillon soit à cause de son état, soit parce qu'il ne répond pas à des conditions acceptables d'identification.

Les frais d'envoi des échantillons sont-ils remboursés ?

Pour les envois du matériel sec à des fins de séquençage, les frais d'envoi sont à la charge de l'expéditeur. Pour les échantillons frais, les frais sont déductibles sur la prochaine facture sous réserve de produire un justificatif. Ne pas oublier d'indiquer le nom de l'expéditeur et le nom de son association.

La ristourne pour l'envoi de champignons frais est-elle individualisée ou mutualisée pour toute l'association ?

Il s'agit d'une décision à prendre au sein de l'association. La FMBDS facture la totalité des travaux de séquençage à l'association, en mentionnant l'éventuelle ristourne et les remboursements de frais d'envoi. L'association refacture à ses adhérents selon des modalités qui lui sont propres.

ANNEXE

Protocole pour la récolte et l'envoi de champignons frais

Condition de récolte

- Qualité

Les champignons récoltés doivent être le plus **frais** possible, privilégier les jeunes sujets (non véreux, non déliquescents, sans blessure), les envoyer le plus rapidement possible afin que MYCEA les reçoivent maximum 2 jours après récolte). Avant l'envoi, les conserver au frais.

MYCEA considèrera que l'échantillon est exploitable dans le cas où :

- L'échantillon ne présente pas de signe de dégénérescence (déliquescence, présence d'insectes ou d'une pourriture)
- L'espèce envoyée n'est pas dans la liste d'espèces à éviter (voir ci-dessous).
- **Quantité** : au **minimum 50 g** d'échantillon frais par champignon doivent être récoltés.
- **Espèces à éviter** : certaines espèces ont déjà été collectées en excès, il est donc inutile de nous les envoyer. Il s'agit des espèces suivantes :

Espèces non désirées
<i>Amanita citrina</i>
<i>Amanita muscaria</i>
<i>Amanita ovoidea</i>
<i>Amanita pantherina</i>
<i>Amanita rubescens</i>
<i>Armillaria mellea</i>
<i>Clitocybe nebularis</i>
<i>Clitocybe odora</i>
<i>Fistulina hepatica</i>
<i>Fomes fomentarius</i>
<i>Fomitopsis betulina</i>
<i>Gymnopus dryophilus</i>
<i>Gymnopus erythropus</i>
<i>Hebeloma laterinum</i>
<i>Hebeloma sinapizans</i>
<i>Hygrophoropsis aurantiaca</i>
<i>Hypholoma fasciculare</i>
<i>Infundibulicybe gibba</i>
<i>Laccaria amethystina</i>
<i>Lactarius blennius</i>
<i>Lactarius controversus</i>
<i>Lactarius deliciosus</i>
<i>Lactarius vellereus</i>
<i>Leccinellum lepidum</i>
<i>Lepiota ignivolvata</i>
<i>Lepista nuda</i>
<i>Lycoperdon perlatum</i>
<i>Lyophyllum infumatum</i>
<i>Macrolepiota fuliginosa</i>
<i>Melanoleuca excissa</i>

Espèces non désirées
<i>Mycena pura</i>
<i>Paxillus involutus</i>
<i>Pholiota lenta</i>
<i>Piptoporus betulinus</i>
<i>Pisolithus tinctorius</i>
<i>Ramaria botrytis</i>
<i>Ramaria flavescens</i>
<i>Rhodocollybia butyracea</i>
<i>Russula aeruginea</i>
<i>Russula delica</i>
<i>Russula integra</i>
<i>Russula mustelina</i>
<i>Russula sanguinea</i>
<i>Suillus collinitus</i>
<i>Suillus granulatus</i>
<i>Suillus luteus</i>
<i>Trametes versicolor</i>
<i>Tricholoma acerbum</i>
<i>Tricholoma album</i>
<i>Tricholoma cedretorum</i>
<i>Tricholoma saponaceum</i>
<i>Tricholoma squarrulosum</i>
<i>Tricholoma terreum</i>
<i>Tricholomopsis rutilans</i>
<i>Tyromyces chioneus</i>
<i>Volvopluteus gloiocephalus</i>
<i>Xerocomus badius</i>

Protocole de récolte

- Récolter le(s) champignon(s)
- Nettoyer le pied de l'excès de sol en brossant ou coupant la base.
- Nettoyer grossièrement le chapeau si nécessaire
- Placer le(s) champignon(s) dans un sac en papier ou papier kraft adapté à la taille de l'échantillon. Plusieurs sporophores de la même espèce peuvent être placés dans le même sac et constituer un échantillon.
- **Les échantillons ne doivent pas être écrasés !!** Lors de la prospection en forêt, se munir d'un panier en osier ou d'un grand sac de courses pour la récolte, dans le cas contraire ramasser uniquement quelques spécimens et les ranger dans le sac à dos.
- Noter sur le sac en papier ; la commune/le nom de la zone/le type de formation végétale (sur souche de X, sous plantation de X, prairie ...). Sinon, donner une référence au champignon (réf. notée sur le sachet) et envoyer un mail les informations correspondantes (adeline.becquer@mycea.fr).
- Envoi des échantillons par **Chronopost (ou UPS)**. Adapter la taille du Chronopost à l'envoi des échantillons pour ne pas écraser les champignons.

- Minimum 15 échantillons / maximum 40 échantillons par envoi.
- Prévenir au moment de l'envoi adeline.becquer@mycea.fr

ADRESSE D'EXPEDITION

MYCEA
162 rue du Caducée
34197 Montpellier Cedex 5

Réception des récoltes

Jusqu'au jeudi maximum, donc envoi du lundi au mercredi.

Ne pas envoyer avant un week-end.