

Génétique de la conservation

Détection d'amphibiens par
l'ADNe



Qu'est-ce que l'ADNe ?

Pourquoi se trouve-t-il dans l'eau ?

- ▶ Tous les êtres vivants « perdent » de l'ADN (par ex. déjections, squames, sécrétions glandulaires, etc.).
- ▶ Dans l'environnement, les longues molécules d'ADN sont décomposées ; avec le temps on en retrouve des fragments de plus en plus courts.
- ▶ Cet ADN peut être isolé et analysé à partir d'échantillons prélevés dans l'environnement.
- ▶ L'ADNe est disponible en très petites quantités (le plus souvent quelques molécules par espèce).



Qu'est-ce qu'un *barcoding locus* ?

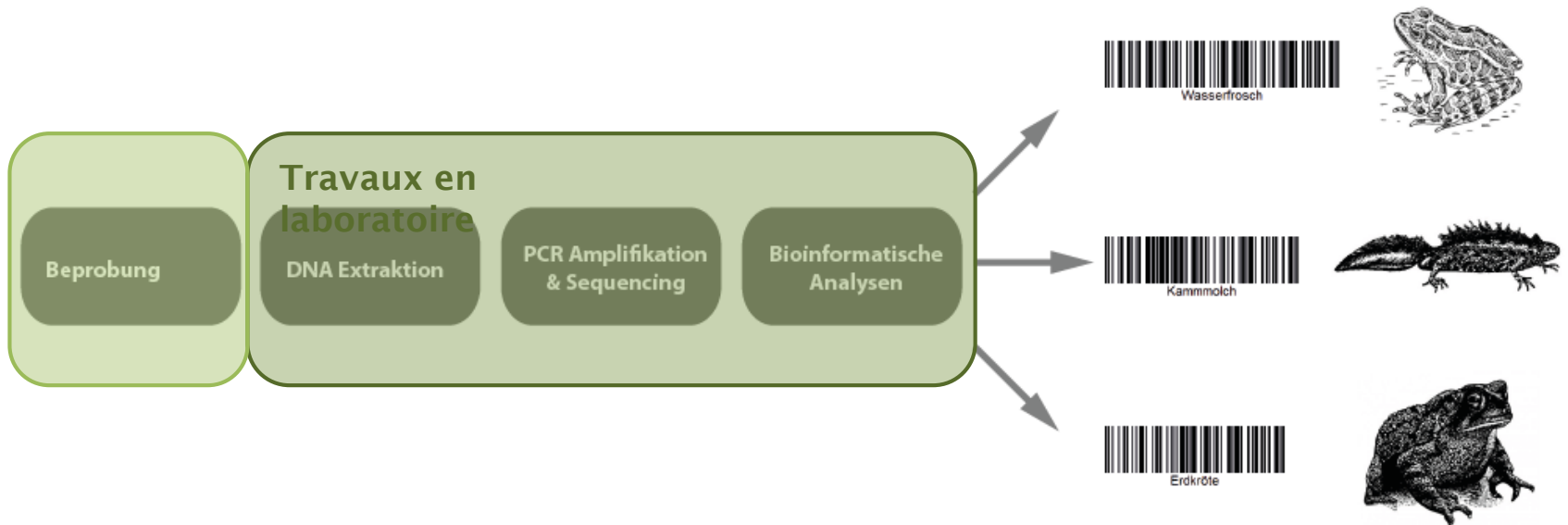
R. lessonae
H. arborea
B. calamita
A. obstetricans
B. variegata
T. cristatus



- ▶ Segment court, très variable, flanqué de régions conservées
- ▶ Si possible sur un gène à copies multiples (par ex. mitochondrie)
- ▶ Base de données de référence / séquences de référence !!!



Déroulement d'une analyse d'ADNe



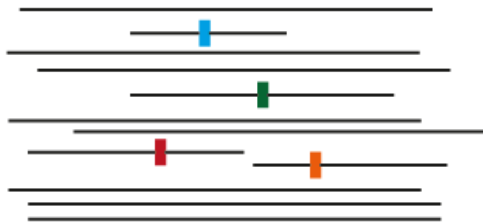
- ▶ **Remarque importante :** classification sur la base d'une comparaison entre le barcode détecté et le barcode de la référence !



Amplification en chaîne par polymérase et séquençage

- ▶ L'amplification en chaîne par polymérase (PCR) permet de reproduire un segment d'ADN (*barcoding locus*) ; limite de détection aux alentours de 10-50 molécules.
- ▶ Les molécules PCR sont séquencées au moyen de nouvelles technologies de séquençage (NGS) ;

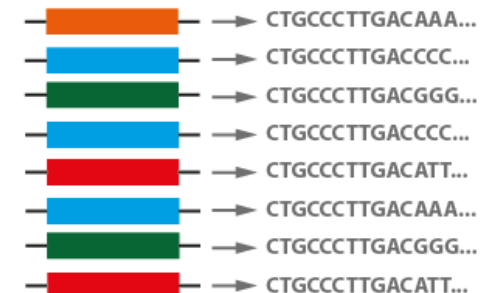
A eDNA



B PCR Produkt



C Sequenzierung



Analyses bioinformatiques

- ▶ **Remarque importante** : lors de l'analyse, on compare les séquences de l'échantillon avec une base de données de référence (→ attribution d'un nom taxonomique à la séquence).
- ▶ Les bases de données de référence sont très importantes.
- ▶ La résolution du marqueur du barcode doit être connue (par exemple pour les grenouilles vertes).
- ▶ D'éventuelles hybridations, etc., influent sur l'analyse et son interprétation.



Défis pour le travail en laboratoire

- ▶ Très petites quantités de matériel ADN, comme dans le domaine forensique → **contamination sur le terrain et en laboratoire !**
- ▶ **Résultats négatifs**, c'est-à-dire aucune amplification d'ADN ; véritablement pas d'ADN d'amphibiens dans l'échantillon ou inhibition dans la PCR ?



Perspectives

- ▶ Autres détections spécifiques planifiées :
 - ▶ Détection d'**ADN de poisson** dans l'échantillon d'eau
 - ▶ Détection d'**ADN de chytridiomycose** dans l'échantillon d'eau
 - ▶ Autres recherches selon les besoins...
- ▶ **Les analyses peuvent être combinées avec la détection d'espèces d'amphibiens ; aucun échantillonnage ou isolement d'ADN supplémentaire n'est nécessaire.**

