

# Analyse ADN des échantillons de plantes provenant du Costa Rica, de Colombie et de Ténérife

## ① INTRODUCTION

Les plantes récoltées lors de voyages ne sont pas toujours faciles à déterminer. La plupart du temps la fleur possède des critères d'identification indispensables pour déterminer l'espèce d'un individu, hors certaines plantes doivent se trouver dans des conditions bien précises pour fleurir ou ne fleurissent que quelques rares fois dans leur vie. Tout cela peut rendre la détermination bien difficile voire impossible, c'est pour cela que nous avons fait appel à des méthodes de séquençage ADN afin de résoudre la détermination de 29 individus présents dans la collection de l'Observatoire du Monde des Plantes.

## ② MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Récolte des échantillons à l'Observatoire du Monde des Plantes
2. Extraction de l'ADN au sein du laboratoire de Biologie, Ecologie et Evolution de l'Université de Liège, la première étape s'appelle la lyse, les morceaux de plantes ont été réduits en poudre suite à un passage dans l'azote liquide puis un broyage dans le but de libérer l'ADN du noyau des cellules.
3. Elimination des composants cellulaires présents dans les tubes à l'aide de chloroforme. Cette étape est appelée l'extraction au chloroforme et donne, après centrifugation, une couche aqueuse contenant l'ADN qui a été récupérée et une couche précipitée contenant les débris organiques qui a été jetée.
4. Précipitation de l'ADN par l'ajout d'isopropanol. Le but de cette phase est de purifier l'ADN extrait. Une fois cette phase réalisée, l'ADN est séché à l'étuve puis re-suspendu dans de l'eau pure avant d'être placé au frigo pendant une nuit.



5. PCR : réalisation de la dilution des amorces, du mixte PCR contenant tous les agents actifs de la réaction. Mise en tubes de l'ADN et du master mixte. Mise en machine des échantillons pendant 2h où les 3 étapes de la PCR (dénaturation, hybridation et élongation seront répétées pendant 35 cycles).
6. Electrophorèse sur gel d'agarose, cela va permettre de séparer l'ADN selon sa taille et sa charge électrique. Cette étape permet de savoir si la quantité d'ADN contenue dans notre échantillon est adéquate pour le séquençage.
7. Purification : cette étape permet l'élimination des réactifs de la PCR tels que les primers, les DNPT, etc. Elle est réalisée par des enzymes ajoutées à la solution.
8. Génotypage et séquençage chez MégaGène
9. Une fois les données des séquençages récupérées et concaténées, elles ont été blastées sur le site « The National Center for Biotechnology Information » (NCBI). NCBI fournit ensuite les pourcentages de ressemblance entre les séquences échantillonnées et les séquences disponibles sur la base de données afin de trouver à quelle espèce appartiennent les échantillons.



## ③ RÉSULTATS

Sur les 29 individus, 12 plantes ont pu être identifiées au moins jusqu'au genre et 12 autres jusqu'à l'espèce. Voici quelques espèces identifiées :



*Pelargonium pillansii*

*Dracaena draco*

*Tillandsia elongata*

*Phyllis nobla*

## ④ CONCLUSION

Grâce au séquençage de l'ADN, de nombreuses plantes ont pu être identifiées. Cependant, il aurait été plus pertinent de se référer à la littérature préalablement afin de déterminer les gènes les plus adaptés à séquencer pour chaque taxon de plante. Pour cette étude, le gène MatK a été systématiquement choisi, mais il aurait été plus intéressant d'opter pour d'autres gènes, notamment pour des taxons spécifiques tel que le genre *Aeonium* pour lequel les diverses espèces résultent d'un processus de radiation évolutive. Ce choix aurait certainement permis de découvrir davantage d'espèces végétales au lieu de se limiter aux genres.