

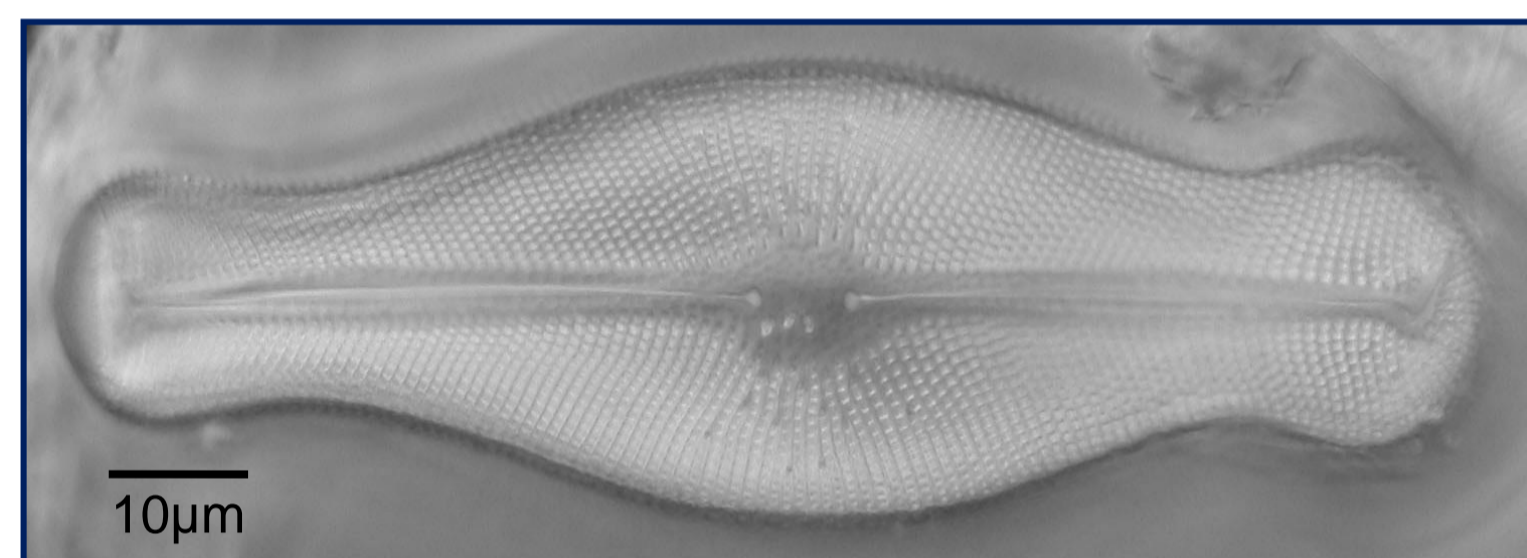
Détection de *Didymosphenia geminata* dans les rivières gaspésiennes : comparaison de l'approche classique par microscopie et de la qPCR

Vincent Laderriere, Sandra Kim Tiam, Carole-Anne Gillis, Claude Fortin, Isabelle Lavoie

Institut National de la Recherche Scientifique, Centre Eau, Terre et Environnement, 490 rue de la Couronne, Québec, QC, Canada G1K 9A9; Contact : vincent.laderriere@ete.inrs.ca

Introduction

Didymosphenia geminata (Lyngbye) M. Schmidt, communément appelée l'algue « *didymo* », possède un fort potentiel envahissant dans les milieux lotiques oligotrophes des régions tempérées et nordiques. C'est une algue brune unicellulaire, qui dans certaines conditions environnementales (à l'exemple de la question des nutriments), se caractérise notamment par la production massive de filaments pouvant parfois former des tapis mucilagineux de plusieurs dizaines de centimètres non sans répercussion sur les habitats ou les activités humaines. Si l'algue n'est pas considérée comme une espèce invasive exotique au Canada, elle a néanmoins suscité une grande préoccupation depuis plusieurs années dans la région de la Gaspésie et du Nouveau-Brunswick, où d'importantes proliférations de l'algue ont été rapportées depuis l'année 2006.



Photos 1 et 2 : Cellule de *D. geminata* observée au microscope optique (gauche) et roche sur laquelle s'est développée un tapis mucilagineux de « *didymo* » (droite)



C'est dans ce contexte, que deux techniques de suivi ont été testées et comparées afin de statuer de la présence de l'algue « *didymo* » : (1) l'approche classique que représente la microscopie optique et (2) l'approche moléculaire utilisant la technique de la qPCR (Quantitative Polymerase Chain Reaction).

Objectifs

Objectifs principaux :

- Démontrer la pertinence de l'utilisation de la qPCR et ses avantages par rapport aux approches classiques
- Développer un outil fiable et efficace de détection et de prévention de l'algue « *didymo* » dans les grandes rivières à saumon de la région de la Gaspésie

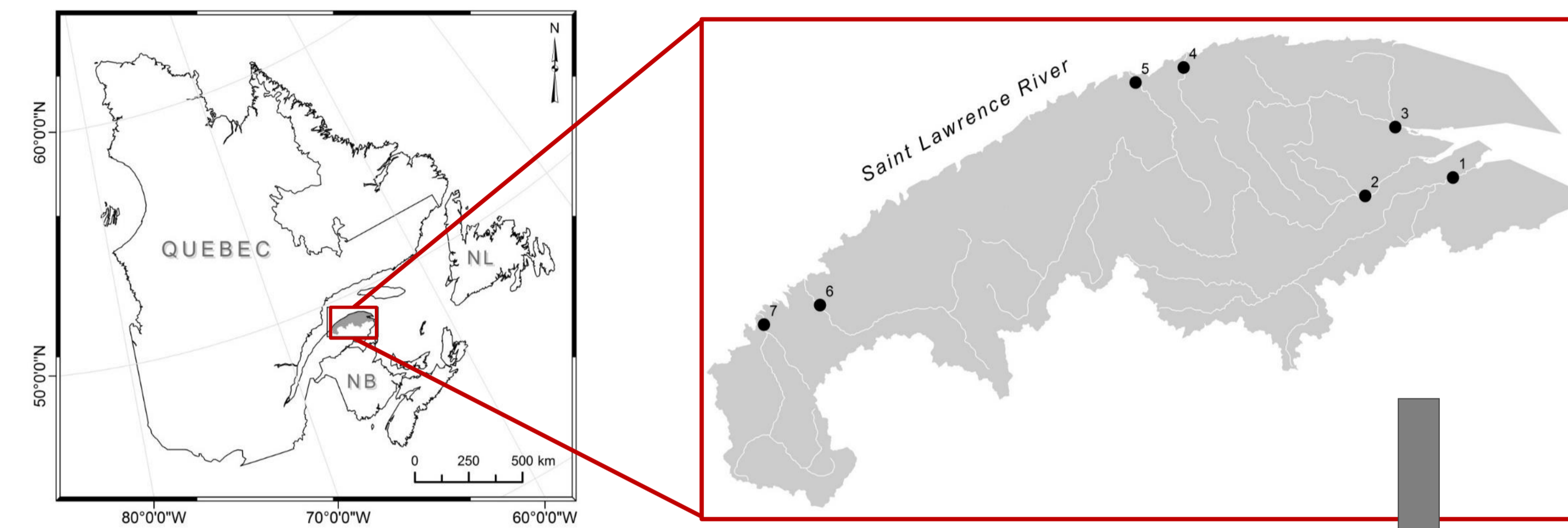
Objectifs secondaires :

- Comparer différents kits d'extraction d'ADN dans un contexte de matrice environnementale (QIAGEN QIAamp DNA Micro Kit vs MOBIO PowerSoil DNA Isolation Kit)
- Étudier les différences obtenues entre deux techniques de prélèvement (grattage vs filtration)

Matériel et Méthodes

Échantillonnage sur sept rivières de la Gaspésie :

Saint-Jean(1), York(2), Dartmouth(3), Grande-Vallée(4), Madeleine(5), Sainte-Anne(6) et Cap-Chat(7)



Rivière témoin : Cap-Rouge

2 types d'échantillonnage :

- Grattage
 - Filtration
- Conservé dans l'éthanol 70%

Étude comparative de deux techniques de détection

2 kits d'extraction d'ADN : (Contrôle d'extraction : ADN Lambda)

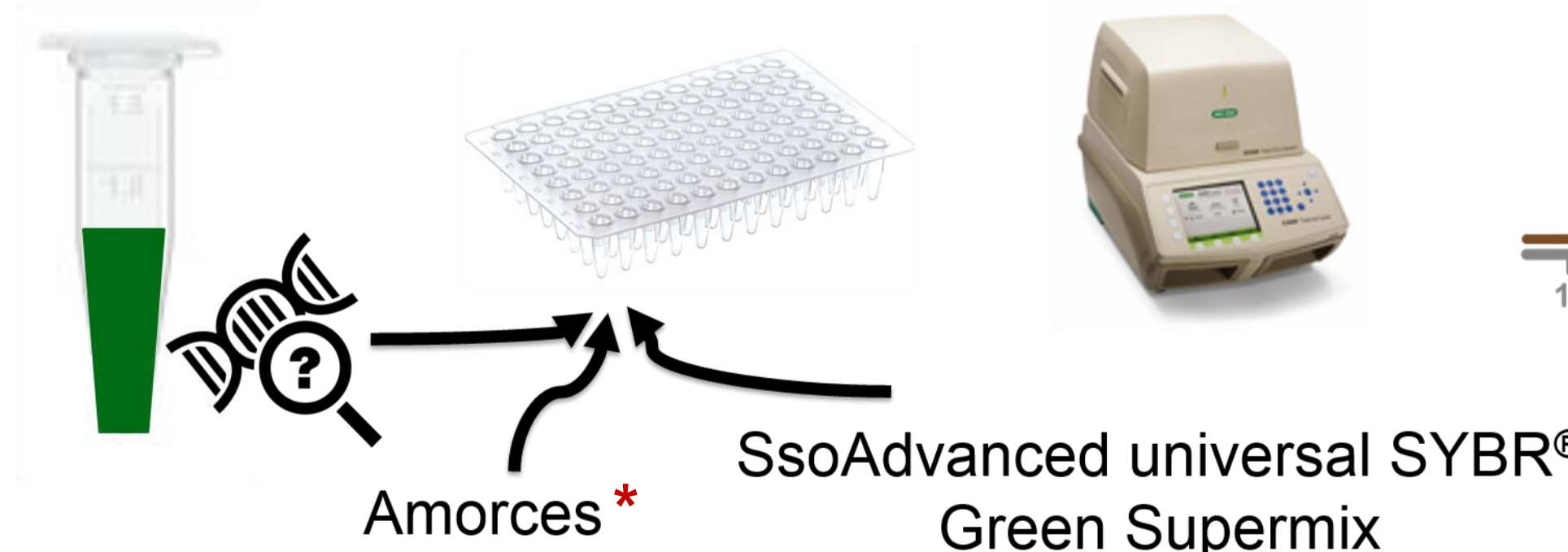
QIAGEN vs MOBIO

Quantitative Polymerase Chain Reaction (qPCR)

Diagnostic de présence/absence

Microscopie

Diagnostic de présence/absence et quantification



* Craig Cary, S., et al. (2007). "A sensitive genetic-based detection capability for *Didymosphenia geminata* (Lyngbye) M. Schmidt : Phases Two and Three." *CBER Contract Report 62*.

Résultats

Comparaison des efficacités d'extraction avec le kit QIAGEN et le kit MOBIO

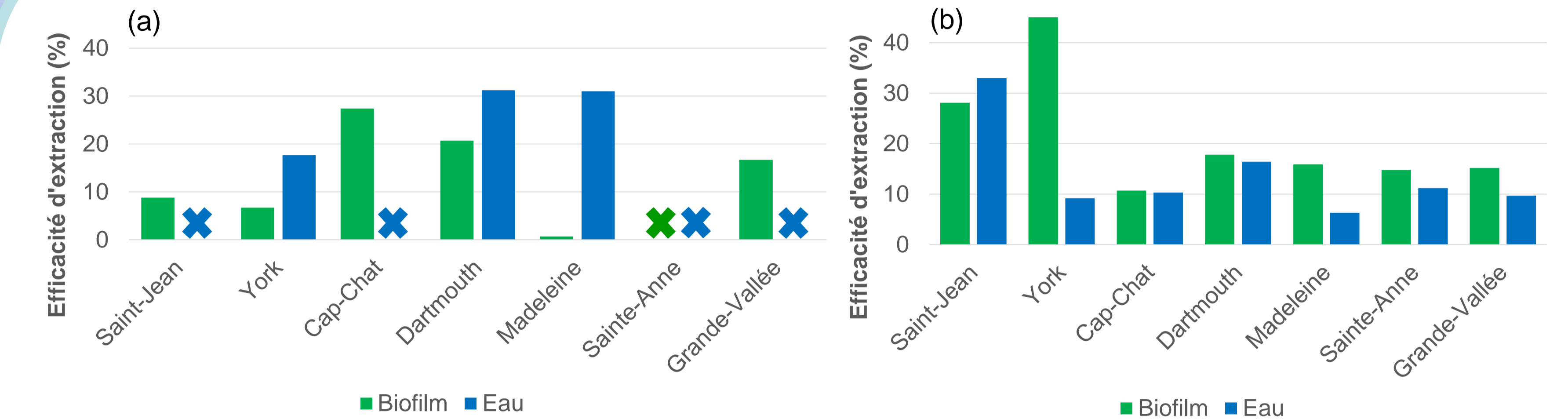


Figure 1 : Efficacités d'extraction (normalisées via un contrôle externe d'ADN lambda) obtenues pour les deux matrices avec le kit d'extraction QIAGEN (a) et MOBIO (b). X: aucune amplification du contrôle

Comparaison de la détection de *D. geminata* par qPCR et par microscopie

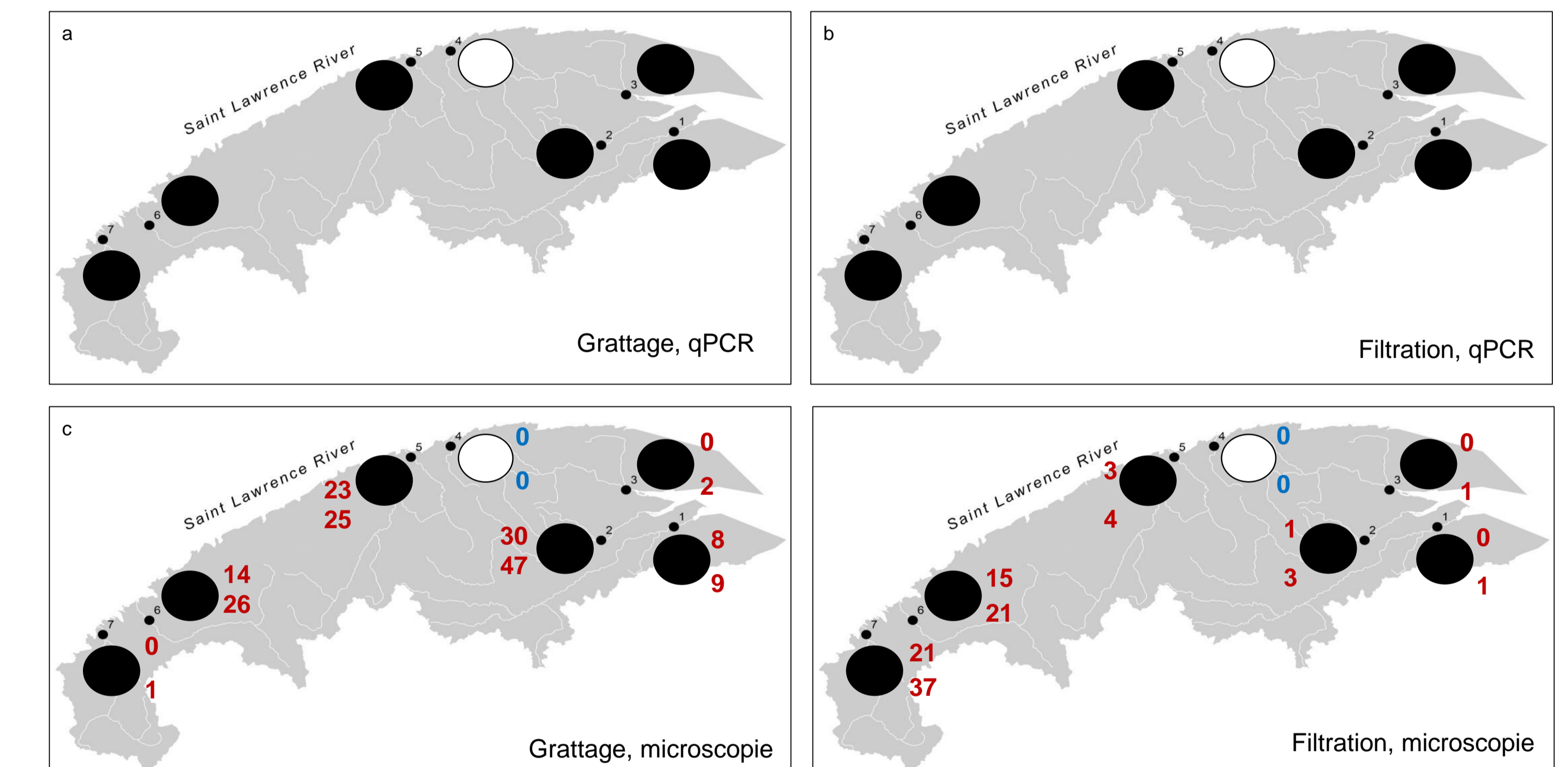


Figure 2 : Présence/absence de *D. geminata* estimée par qPCR après extraction avec le kit MOBIO (a et b) (présence: cercles noirs, absence: cercles blancs) et par microscopie (c et d) (les chiffres indiquent le nombre de cellules dénombrées dans une aliquote de 100 µL en duplicatas techniques) pour les sept sites d'échantillonnage de la région de la Gaspésie

Conclusions et perspectives

- qPCR constitue une alternative robuste et avantageuse à l'approche classique de la microscopie
- Résultats similaires obtenus par les deux approches
- Présence de l'algue « *didymo* » dans six des sept rivières testées (exception de la rivière Grande-Vallée)
- Meilleure efficacité et fiabilité d'extraction du kit MOBIO comparé au kit QIAGEN
- Nécessité d'améliorer l'efficacité d'extraction afin de développer l'aspect quantitatif de la méthode par qPCR