

# De l'inventaire de la biodiversité à la bio-indication pour la gestion des écosystèmes aquatiques

*ADNe : petit virage ou révolution ?*

**Nicolas ROSET – AFB AuRA**

**Réseau des acteurs Eau en Montagne**  
**Journée « Bio-surveillance et préservation des écosystèmes aquatiques »**

Thonons-les-Bains le 7 juin 2018



**Réseau des acteurs**  
**EAU EN MONTAGNE**



MINISTÈRE  
DE LA TRANSITION  
ÉCOLOGIQUE  
ET SOLIDAIRE

**AGENCE FRANÇAISE**  
**POUR LA BIODIVERSITÉ**

ÉTABLISSEMENT PUBLIC DE L'ÉTAT

# Inventaire, suivis... besoins pour préserver la biodiversité

---

## Biodiversité

- Somme des **gènes, espèces** (diversité taxonomique ou fonctionnelle) mais aussi des **paysages / écosystèmes** et leurs organisations (interactions, échelles)
- => **concepts éminemment complexes, ramifiés et interdépendants**
- Biodiversité = mécanismes potentiels majeurs de la Nature pour s'adapter aux changements d'environnement (anthropique)
- Demande croissante de la société pour connaître cette biodiversité et son évolution...
- ...mais une connaissance dépendante des techniques et des moyens (identification/spécialistes, réseaux de suivis/couverture-fréquence...)

# Inventaire, suivis... besoins pour préserver la biodiversité

---

## Biodiversité -> Ecologie -> Bio-indication

- *Inventaire de la biodiversité : fortement limité et seule une fraction des êtres vivants a été aujourd'hui décrit (en particulier dans les petites échelles...)*
- *Compréhension du fonctionnement des écosystèmes : fortement dépendante des inventaires des espèces et des facteurs d'organisation à différentes échelles = limitée aussi*
- *Idem bio-indication : basée sur la bonne compréhension des réponses des communautés biologiques aux variations des conditions environnementales (naturelles + anthropiques)*



vision partielle (échantillonnage plutôt qu'inventaire)  
et souvent fragmentée (frontière entre groupes taxonomiques)

# Biodiversité et outils d'inventaire

---

## ➤ Des bilans disponibles...

*ex. ONB-2017 : régression d'un quart (23%) des populations d'oiseaux communs les plus sensibles aux dégradations des écosystèmes entre 1989 et 2015 ; près de la moitié (-46%) pour les populations de chauves-souris entre 2006 et 2014).*

*un tiers (31%) des espèces évaluées dans les Listes rouges UICN-MNHN sont menacées, avec de fortes disparités selon les groupes d'espèces*

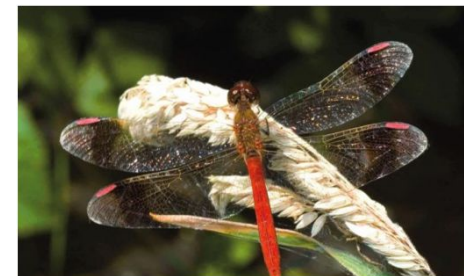
## ➤ ...mais partiels

- *2 millions d'espèces seraient déjà décrites, mais 8 à 10 millions d'espèces resteraient à découvrir (insectes, champignons, unicellulaires...)*
- *Les espèces actuelles ne présenteraient qu'1/1000<sup>e</sup> des espèces ayant existées*

# Inventaire, suivis... besoins pour préserver la biodiversité

## Suivi d'espèces

- *protégées, en danger, patrimoniales : moule perlière, écrevisses autochtones, apron, ....*



- invasives

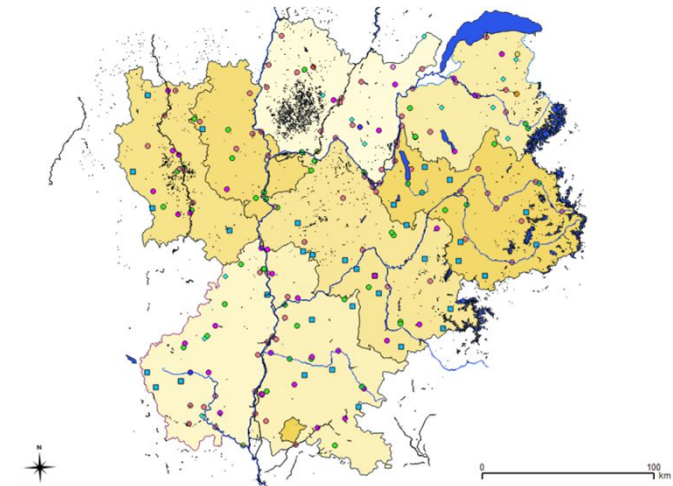
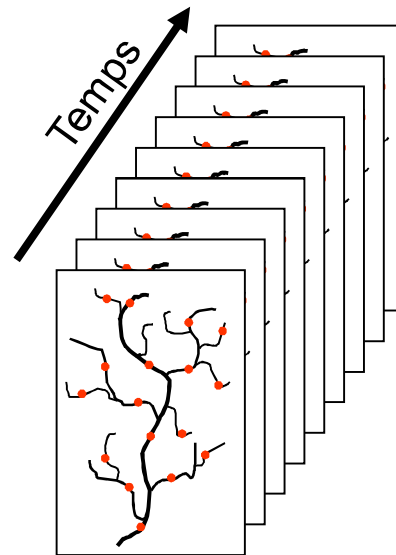




# Inventaire, suivis... besoins pour préserver la biodiversité

## Evolution des peuplements (ex. poissons-CE)

- spatiale
- temporelle



Trotte Fario



Ombre



Carpe commune



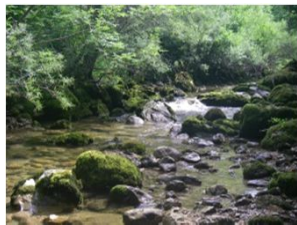
Branle



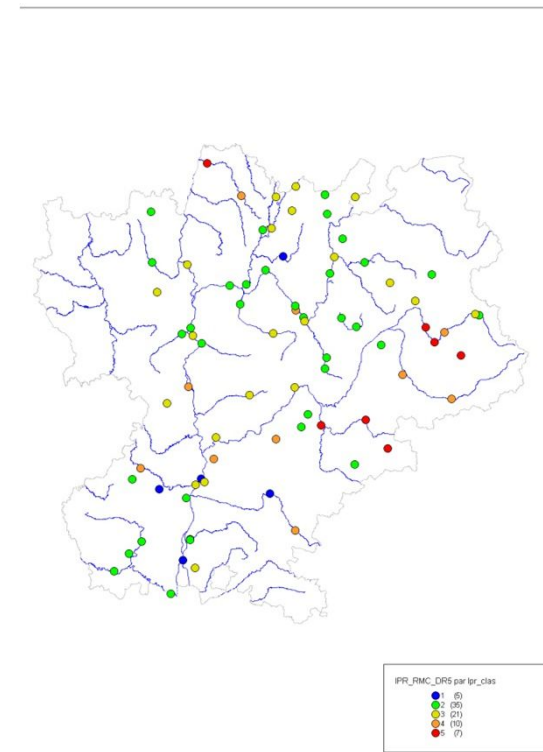
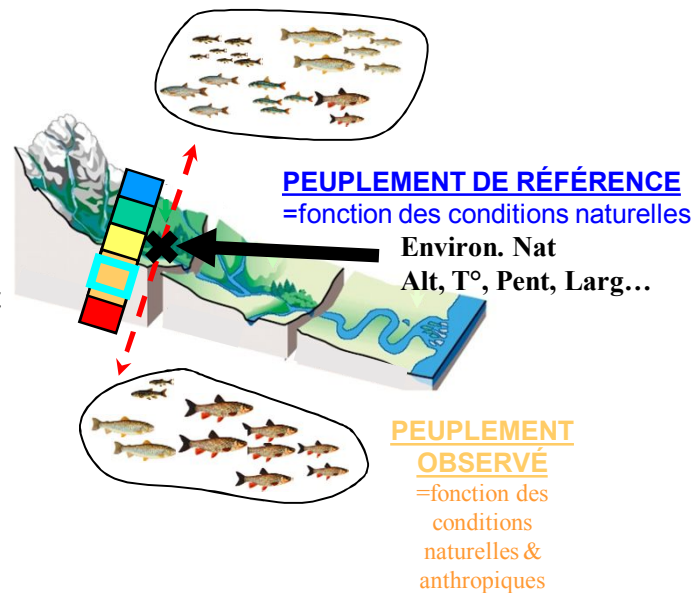
# Inventaire, suivis... besoins pour préserver la biodiversité

## Bio-indication

- Comparer une situation observée à une situation de référence
- Quantifier l'impact des pressions anthropiques
- Hiérarchiser les causes et prioriser les actions de restauration

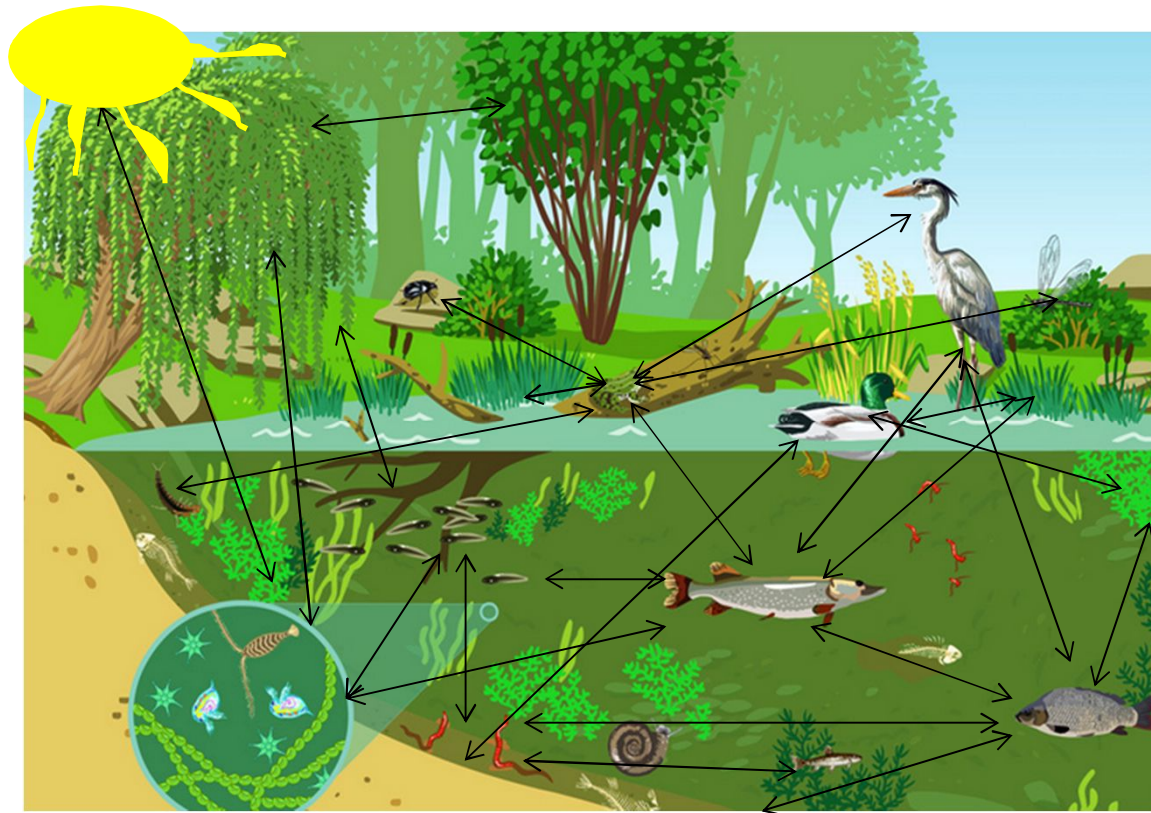


plus l'écart est important ;  
plus le cours d'eau est dégradé



# Biodiversité et outils d'inventaire

**Biodiversité -> Ecologie -> Bio-indication**



« graal » de l'écologie : un outil qui décrirait l'ensemble des peuplements



# Biodiversité et outils d'inventaire

## Techniques d'inventaires « traditionnelles »

- *Adaptées à l'objet et souvent extrêmement spécialisées*
- *Inconvénients/limites*
  - ✓ *impossible ou difficiles à mettre en œuvre dans certains environnements peu accessibles (profondeurs océaniques....)*
  - ✓ *relativement couteuses (prélèvements, observation, tri, détermination...)*
  - ✓ *fiabilité dépendant de l'expérience et du nombre de spécialistes ⇔ niveaux de détermination / performances potentiellement variables*
  - ✓ *variables y compris pour un même groupe selon les types de milieu*



biodiversité = champs extrêmement vaste et complexe  
or de la qualité des connaissances dépend l'efficacité des actions



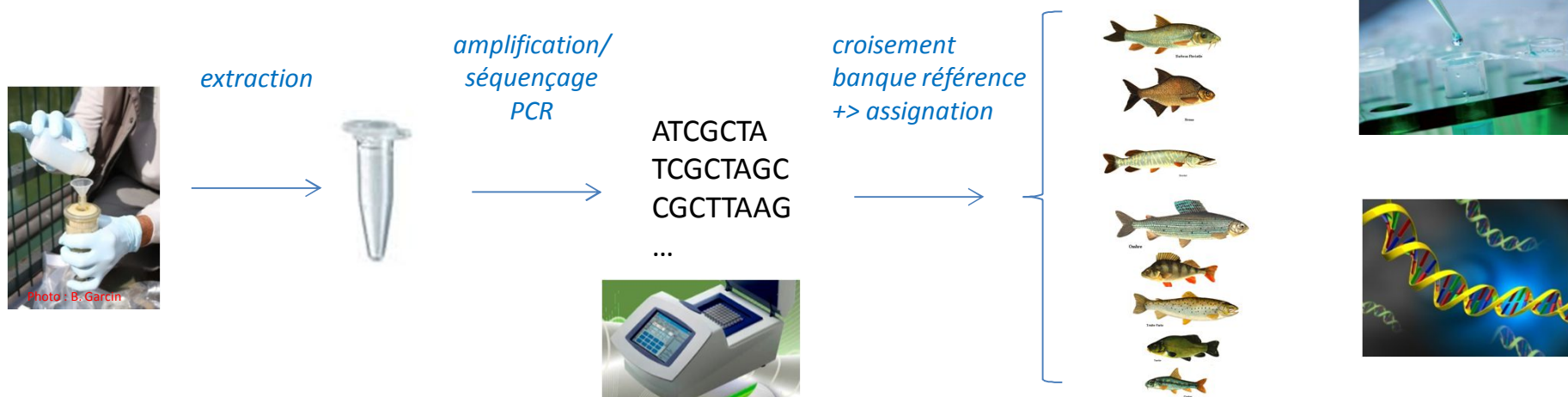
# Biodiversité et outils d'inventaire

Biodiversité -> Ecologie -> Bio-indication



# ADNe

## ➤ Principes



- *extraction de traces d'ADN (mucus, excréments, excréments, cadavres, mues...) présentes dans toutes formes de milieux/ matrices (sol, eau, fèces...)*
- *amplification de quantités extrêmement faibles de fragments d'ADN (Polymerase Chain Reaction) à partir d'amorces spécifiques*
- *séquençage (décryptage des successions de nucléotides : adénine, cytosine, guanine, thymine)*
- *croisement avec des bases de données génétiques de référence*
- *résultat : une liste d'espèces associée à une « quantité d'ADN » détectée*

# ADNe

## ➤ Bref historique

- *microbiologie marine (1987)*
- *paléo-environnement (Willerslev 2000)*

*reconstruction de paléo-communautés à partir d'échantillon dans sols gelés*

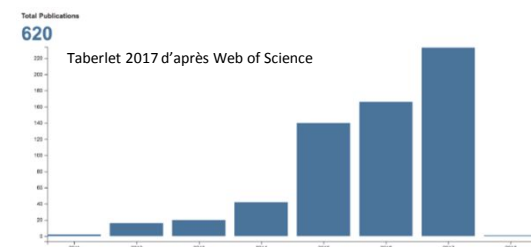
- *faune alpine (Taberlet 2004-2005)*

*Ours dans les Pyrénées ...*

- *amphibien et plans d'eau (Miaud 2008)*

*recherche de présence de grenouille taureau dans des plans d'eau du SO – efficacité supérieure aux méthodes traditionnelles*

- *régimes alimentaires (Valentini et al 2009)*
- *poissons en cours d'eau (2011...)*
- *diatomées, invertébrés...?*

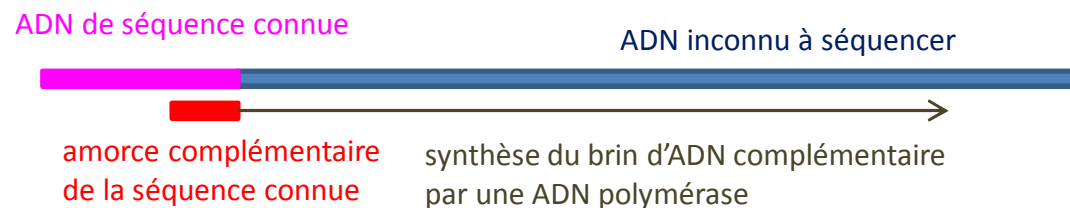




# ADNe

## ➤ **barcoding / meta-barcoding ?**

- « *barcoding* » : permet la détection d'une espèce ciblée -> choix d'amorces spécifiques d'amplification
- « *metabarcoding* » : permet la détection d'un ensemble d'espèces appartenant au même groupe taxonomique. Ces amorces universelles doivent s'hybrider sur des régions de l'ADN conservées au sein du groupe ciblé. Rendu possible par nouvelle technologie de séquençage (NGS)



# ADNe

## ➤ Des protocoles standardisés par type de milieu

### ■ *cours d'eau (eaux courantes)*

*filtration de 30 min (~30L) – 2 réplicats*



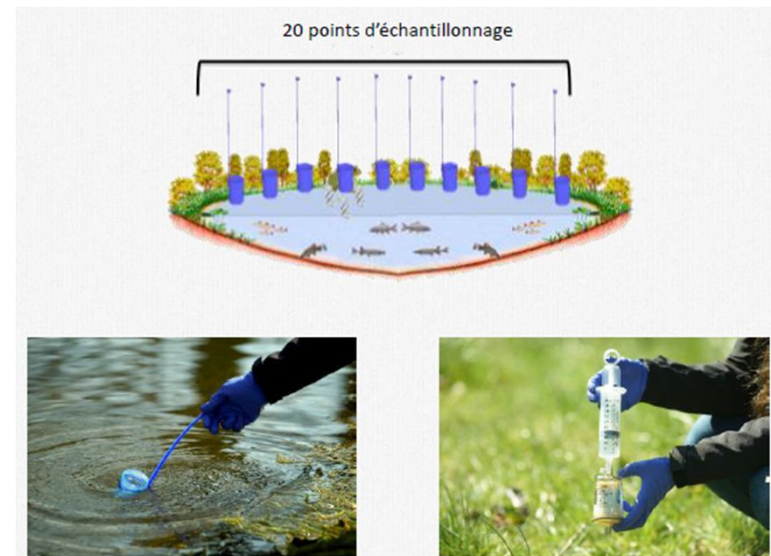
# ADNe

- **Des protocoles standardisés par type de milieu**
  - *plans d'eau / étangs (eaux stagnantes)*

*20 prélèvements d'eau de 100 mL avec la louche stérile autour du site étudié*



Spygen 2017



## ADNe

### ➤ Des réflexions méthodologiques spécifiques aux milieux aquatiques

- *comment ? combien prélever ?*

*test de plusieurs stratégie d'échantillonnage notamment sur le Rhône et l'Ardèche aval*

*(Thèse R Civade 2016)*

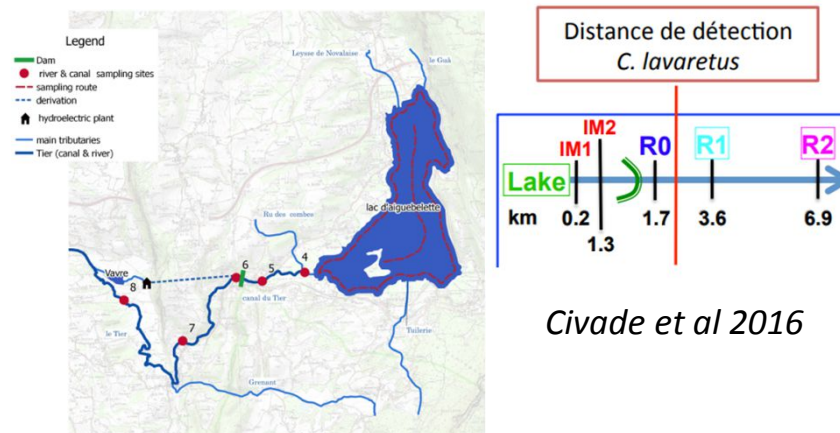




# ADNe

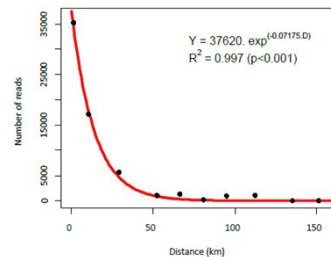
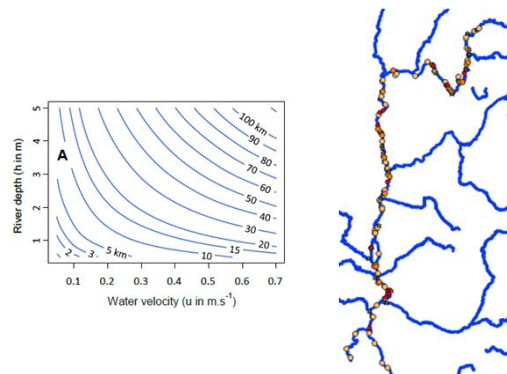
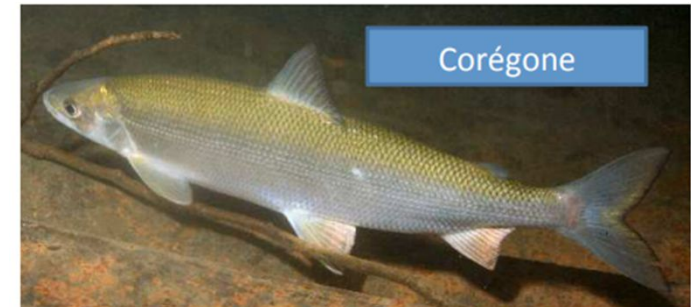
## ➤ Des réflexions méthodologiques spécifiques aux milieux aquatiques

- *quelle distance / échelle de détection ?*



*Civade et al 2016*

### Aiguebelette-Tiers

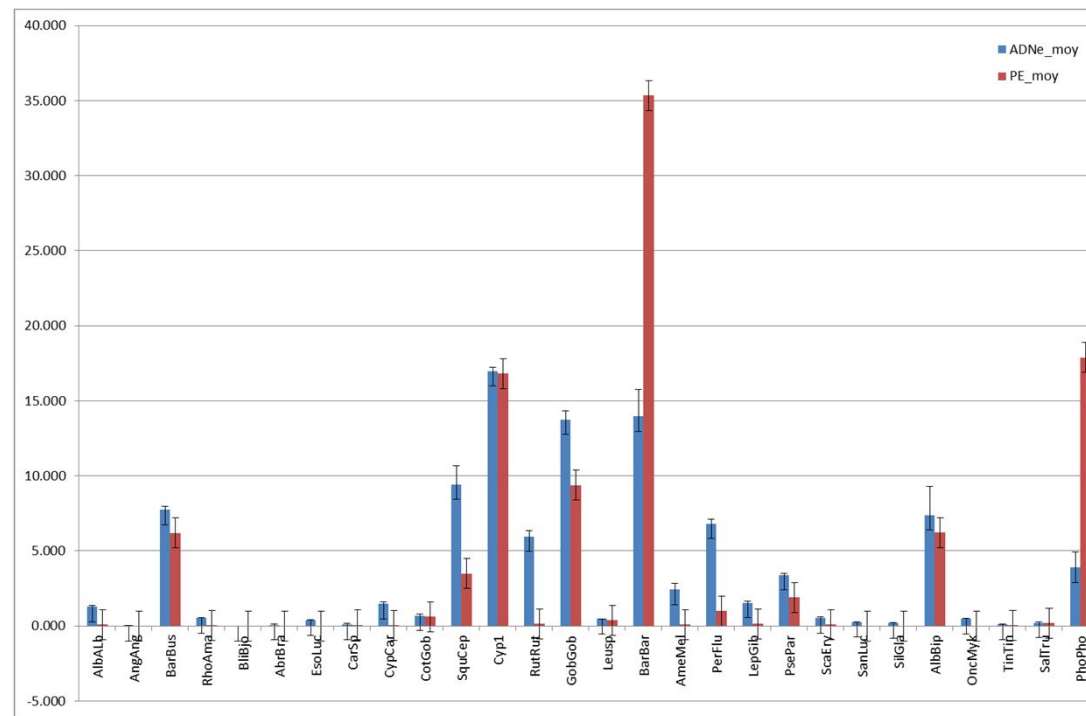


*Pont et al submitted*

### Rhône (Léman-Med.)

# ADNe

- **Des réflexions méthodologiques spécifiques aux milieux aquatiques**
  - *quelle précision-corrélation / méthodes traditionnelles ?*



Ex. Chalaronne à StEt/Chal.

# ADNe

- **Des réflexions méthodologiques spécifiques aux milieux aquatiques**
  - *quelle variabilité / erreur ?*

SPYCOD	STAT	PARAMETRE	▼ AbrBra	AlbBip	AlbAlb	AloSp	AmeSp
			<i>Abramis brama</i>	<i>Alburnoides bipunctatus</i>	<i>Alburnus alburnus</i>	<i>Alosa sp.</i>	<i>Ameiurus sp.</i>
SPY1600673	Pougny	Nb de reads 1	15562	3453	697	0	0
SPY1600673	Pougny	Nb de répliqués 1	9	4	2	0	0
SPY1600674	Pougny	Nb de reads 2	7451	1286	738	0	0
SPY1600674	Pougny	Nb de répliqués 2	5	5	3	0	0
SPY1600675	PontCarnot1	Nb de reads 1	10343	3234	3607	0	0
SPY1600675	PontCarnot1	Nb de répliqués 1	11	6	4	0	0
SPY1600676	PontCarnot2	Nb de reads 2	10072	2696	1624	0	0
SPY1600676	PontCarnot2	Nb de répliqués 2	10	4	5	0	0

# ADNe

---

## ➤ Performances - Avantages

- *Méthode « non invasive » : pas d'impact sur le milieu / organismes*
- *Tend vers l'exhaustivité – potentiellement sur l'ensemble (au - plusieurs) des groupes taxonomiques (metabarcoding)*

**=> outil d'inventaire de la biodiversité par excellence**

- *Capacité de détection élevée pour un rapport coût/bénéfice souvent supérieur aux méthodes traditionnelles (**Attention au niveau d'information recherché**)*



# ADNe

---

## ➤ Performances - Avantages

- *Rend possible l'inventaire de milieux peu accessibles (ex plans d'eau, grands cours d'eau, milieux souterrains...)*
- *Affranchi (à un certain point) des difficultés taxonomiques dans des milieux peu connus, très diversifiés et/ou à forte densité*
- *Permet au moins en premier approche l'étude efficiente d'un territoire élargi (ex. sous-bassin)*
- *Une même méthode pour différents groupes ?*

**=> standardisation**

# ADNe

---

## ➤ Limites

- *Nombreuses sources d'erreur de l'échantillonnage aux analyses de laboratoire (contaminations) en passant par l'analyse bio-informatique*
  - ⇒ *rien de magique et un besoin impératif de prudence dans l'analyse des résultats*
  - ⇒ *risques de contamination : précaution extrême dans les prélèvements et analyse sur des quantités infinitésimales*
  - ⇒ *attention au choix des amorces ; méthode de séquençage ; référentiel / banque de données de référence*
- *Besoin d'expertise et regard critique*
  - ⇒ *faire cohabiter avec les méthodes traditionnelles pour asseoir et préciser son domaine d'application et permettre son évolution (mise à jour des bases génétiques, améliorations...)*
- *Des taxons encore indifférenciés*  
*ex. BLN/HOT/TOX...*

# ADNe

## ➤ Limites

- *Performances variables selon les groupes :*
  - ✓ *Très bonnes pour Mollusques, Poissons, Diatomés*
  - ✓ *Plus compliqué pour approche « peuplement » invertébrés?*
  - ✓ *Encore variables pour mammifères*
  - ✓ *Pas encore au point pour écrevisses*
- *Ne pas bruler les étapes => ex. bio-indication : redévelopper les indices avec des données ADNe sur des stations de référence et un panel de situation*
- *Quantification ? à quoi correspond réellement la quantité de signal (« reads »)*
  - ⇒ *besoin de distinguer l'abondance de la proximité spatiale*
  - ⇒ *Approfondir l'étude des corrélations avec les méthodes quantitatives traditionnelles*



*on est sur une quantification relative (%) => pas d'information sur la structure es populations (estimation d'abondance, classes d'âge...)*

# ADNe

---

## ➤ Questions - perspectives

- *Pourquoi n'enregistre-t-on pas de variation saisonnière / pics d'abondance liés à la reproduction (œufs, émergences des larves...)?*
- *Pourquoi certaines espèces rares ne sont pas détectées alors que d'autres le sont très bien (ex. LOT) ?*
- *Echelle de détection : s'habituer à un changement d'échelle station-> tronçon avec des interférence/pièges (SAT provenant alimentation? TRF/CHA provenant de petits affluents....)*
- *Dans quelle mesures la quantité d'ADNe est comparable au sein d'un groupe d'une station ou d'une campagne à l'autre – d'un groupe à l'autre (invert/diat/poissons...)?*

# ADNe

---

## ➤ **Réticences**

- *Que mesure-t-on ? (ADN intra - extracellulaire ; vivant-mort ; densité-biomasse...)*
- *Remplacement des méthodes traditionnelles?*
- *Perte des fondements de l'écologie de terrain et des spécialistes ?*



# Conclusion

---

- Définir un cadre pour l'utilisation de l'ADN notamment pour des études réglementaires
- Combiner les plus souvent (longtemps) possible les méthodes pour mieux définir objectivement les avantages et limites respectives
- Poursuivre les investigations et la mise au point (écrevisses, macrophytes?)
- Fiabiliser (normaliser?) les méthodes d'analyse et de contrôle-qualité
- Mettre en œuvre les études nécessaires pour valider les perspectives de bio-indication et mettre à jour proprement les outils
- Poursuivre l'amélioration des bases de données de référence

**Merci de votre attention**

**AGENCE FRANÇAISE  
POUR LA BIODIVERSITÉ**



**AGENCE FRANÇAISE  
POUR LA BIODIVERSITÉ**

ÉTABLISSEMENT PUBLIC DE L'ÉTAT