





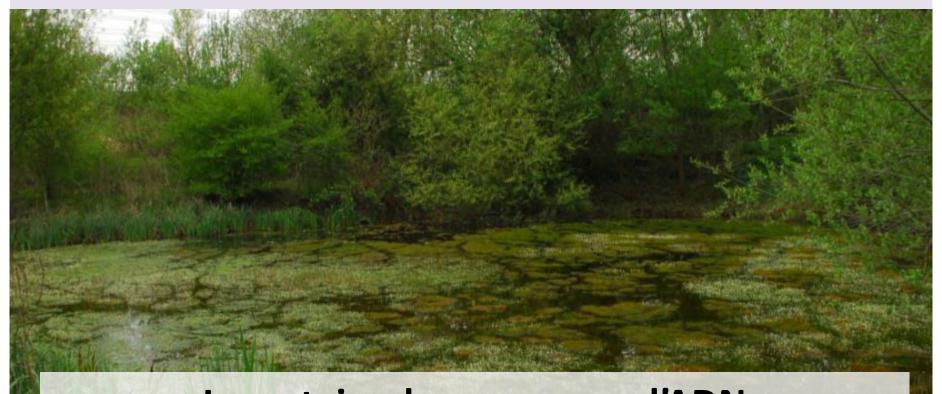






**Maxime Zucca** 





# Inventaire des mares par l'ADN environnemental

Rencontres Herpétologiques d'Ile-de-France – 14 mars 2015













# **ADN** environnemental : un principe simple

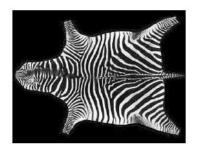
Une courte séquence d'une région précise du génome sélectionnée pour sa spécificité permet d'attribuer un nom d'espèce à un spécimen

















Equus burchelli

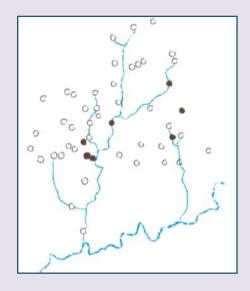




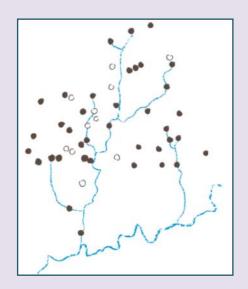


#### Pourquoi cette étude?

- → Etude comparative pour l'inventaire de la Grenouille taureau sur 49 sites (PNRPL)
  - Inventaire classique : Prospection diurne & Ecoute nocturne
  - Inventaire ADNe : 3 prélèvements d'eau de 15 ml



**Inventaire classique :** Détection sur **7 sites** 



<u>Inventaire ADNe :</u>
Détection sur 38 sites





**\*** îledeFrance



#### Pourquoi cette étude?

#### ✓ Performance de l'ADNe

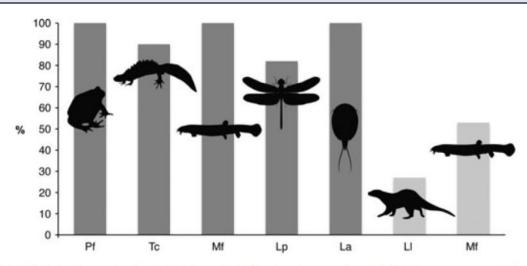


Fig. 2 Environmental DNA detection rates by qPCR in natural freshwater ponds with 100% occurrence of the species confirmed in the field (dark grey) or larger freshwater systems with known occurrence in the area (light grey). Detection rates are given in percentage positive localities out of the total number of localities surveyed for each species. Data covers amphibians: Pf (Pelobates fuscus, n = 9) and Tc (Triturus cristatus, n = 11); fish: Mf (Misgurnus fossilis, n = 11 ponds and n = 15 streams—light grey); insects: Lp (Leucorrhinia pectoralis, n = 11); crustaceans: La (Lepidurus apus, n = 10) and mammals: Ll (Lutra lutra, n = 15 streams and lakes).







#### Pourquoi cette étude?

Extrait des statuts de Natureparif

« L'association a pour la mise en place et la gestion d'un système d'observation sur les écosystème et leur évolution en terme de biodiversité, de ressources naturelles et géologiques (...)

Dans ce but, elle crée, développe, gère et met à jour une base de données susceptible d'être intégrée aux différents systèmes d'informations géographiques régionaux. Elle peut également conduire des opérations d'expérimentations et d'inventaires (...)







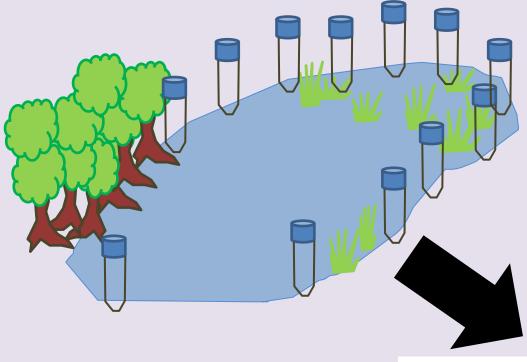






#### La méthode

- > Etape 1 : échantillonnage
  - 20 prélèvements d'eau par mare
  - optimum : 1 tous les 20 m







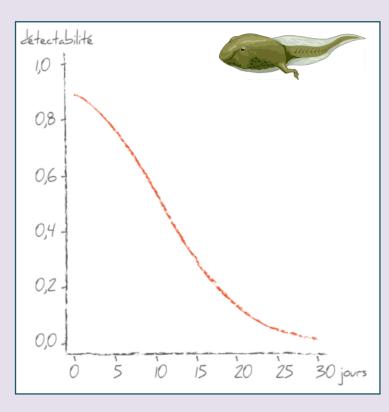




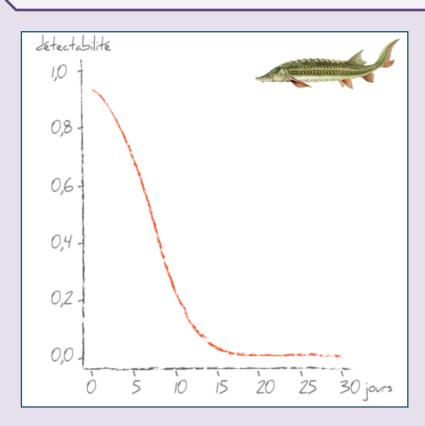




#### Persistance de l'ADNe en milieu aquatique



**Conditions contrôlées** 



**Conditions naturelles** 

Dégradation plus rapide de l'ADN dans l'environnement → radiations UV, bactéries, etc.







#### La méthode

#### **Identification des espèces**





Base de références

Amplification avec amorces universelles amphibien



Séquençage NGS de l'ADN







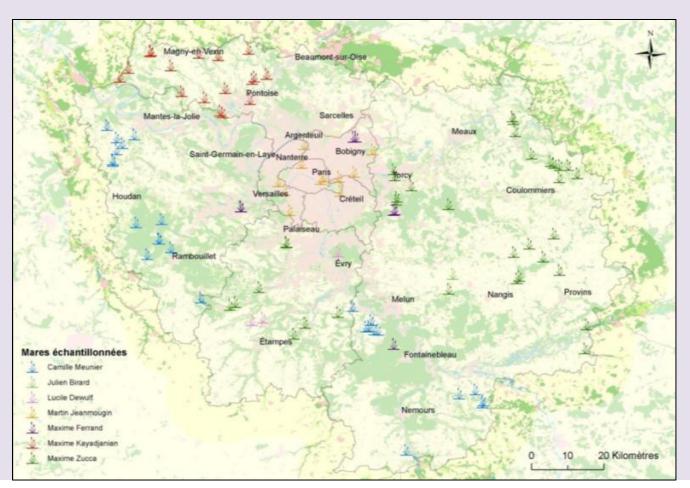






#### Première étude en 2013

#### 100 mares, 4 groupes taxonomiques















#### Le choix des 100 mares

> Reflet répartition des habitats franciliens

	% idf	% mares
Ville	21	19
Espaces agricoles et ouverts semi-naturels	56	52
Forêts	23	29

- > Potentiel d'accueil pour la biodiversité
- Bien réparties dans la région
- Données existantes

Echantillonnages effectués entre le 29 avril et le 23 mai 2013













## **Résultats: Les Amphibiens**

- > 9 mares sans Amphibiens
- moyenne : 2 espèces par mare
- maximum : 5 espèces (4 mares)
- ➤ Le plus fréquent : Crapaud commun (47 mares)





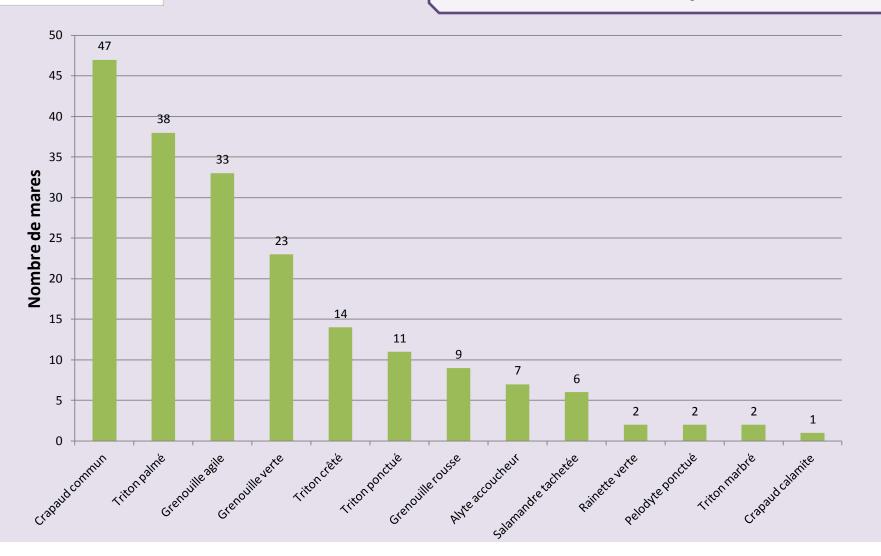








## Résultats : les Amphibiens

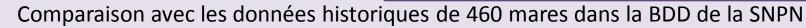


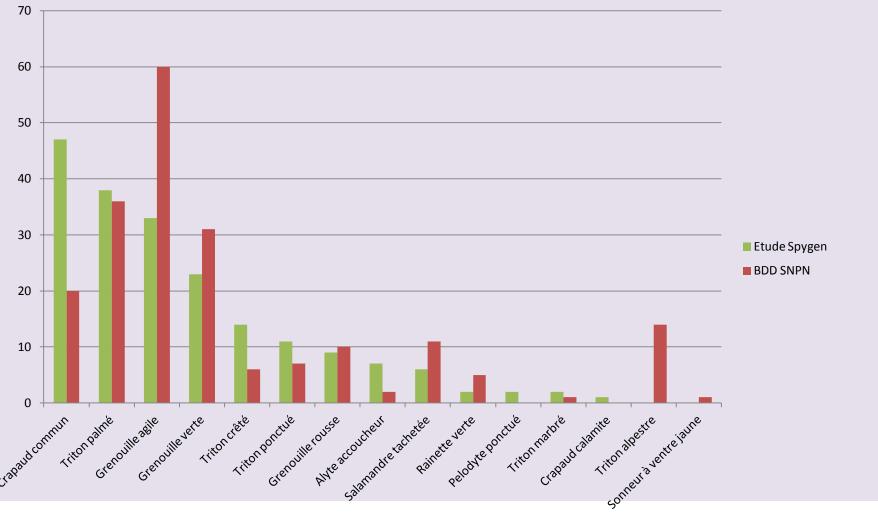






## **Résultats: Les Amphibiens**











## **Les Amphibiens**

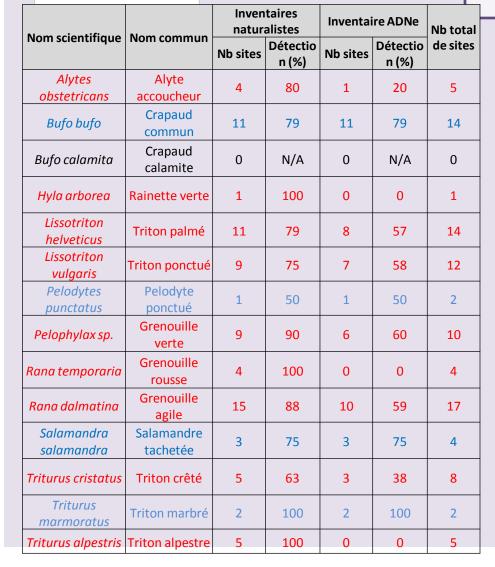
➤ 2 absents : Triton alpestre et Sonneur à ventre jaune













### **Résultats: Les Amphibiens**

Contradictoire avec les résultats d'Ecosphère, montrant une détectabilité proche de 100% avec l'ADN environnemental.

Les échantillons d'ADN reçus par Spygen contenaient moins d'ADN qu'en moyenne (T. Dejean, com. Pers) → Peut-être lié à un problème de conservation probable dû au transports des échantillons







## Résultats, les Amphibiens

Mise en évidence du biais important du à la provenance des amorces Mise en évidence du risque lié à une mauvaise conservation des échantillons

Plusieurs autres biais testés (sur la richesse spécifique des mares)

- la prédominance d'une espèce masque-t-elle les signaux d'espèces peu fréquentes ? (cas du Crapaud commun)
- -Pas d'effet observateur
- -Pas de grand milieu plus riche qu'un autre
- -Pas d'effet date du prélèvement (étalés sur un mois)



























#### **Les Poissons**

- ➤ 61 mares sans poissons
- > moyenne : 2 espèces par mare avec poissons
- > maximum : **7 espèces** (1 mare)
- ➤ Les plus communs : Carassins et Gardon (17 mares)









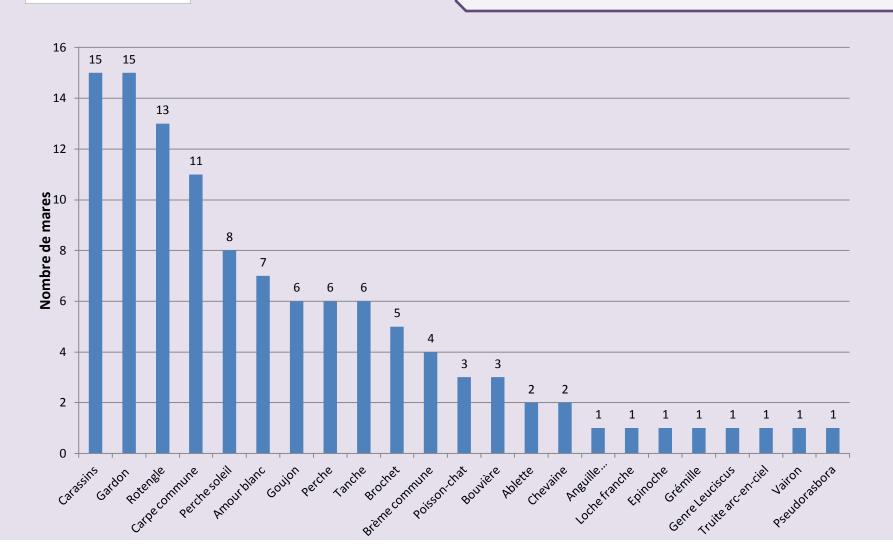








#### **Les Poissons**









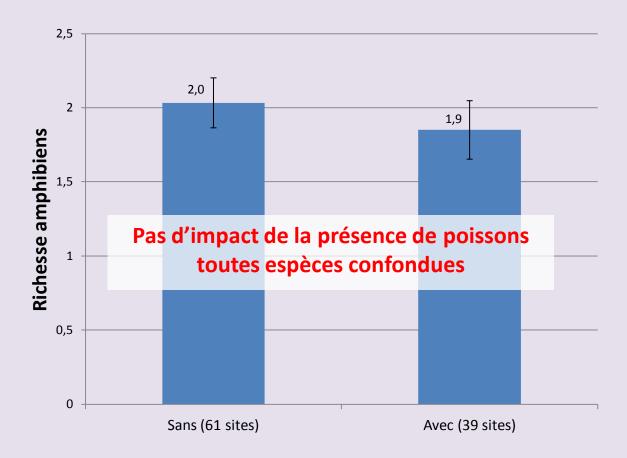






### **Amphibiens - Poissons**

> Comparaison de la richesse en amphibiens









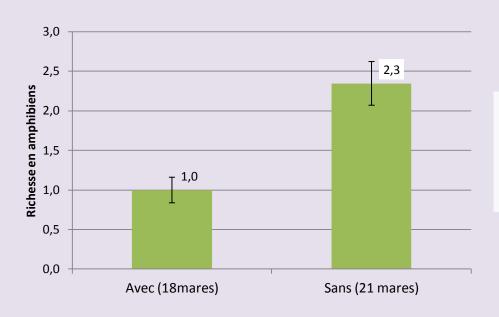






### **Amphibiens – Poissons carnivores**

#### Comparaison de la richesse en amphibiens



En présence de poissons carnivores, le nombre d'espèces d'amphibiens est plus de deux fois inférieur



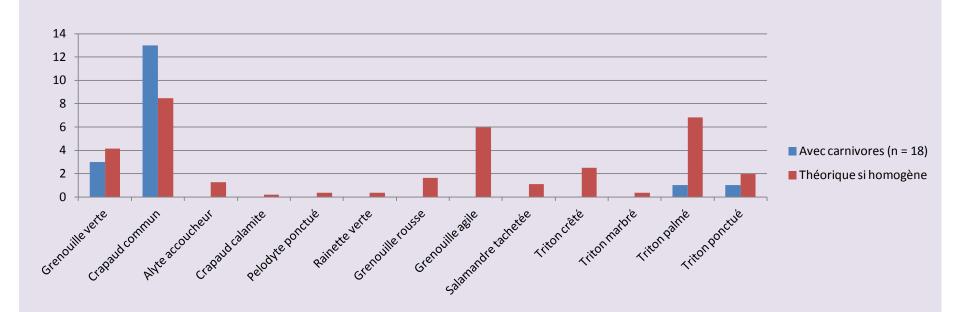
20% des mares franciliennes sont défavorables à la présence d'amphibiens du fait de l'introduction de poissons prédateurs







#### **Amphibiens – Poissons carnivores**



Le Crapaud commun semble sélectionner les mares avec carnivores

Publication des résultats prévue, en lien avec l'étude menée par ODONAT





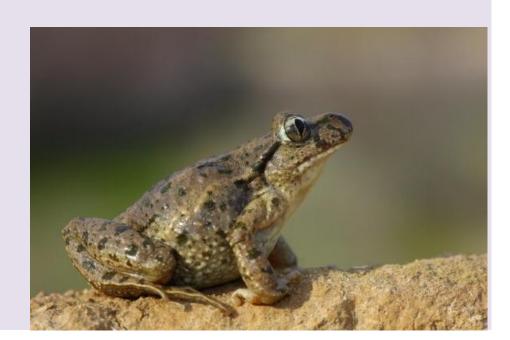


#### 2è étude en 2014

#### Phénologie de détection de l'ADNe d'amphibiens

Sélection de 6 mares riches et comportant toutes les espèces d'amphibiens d'après les résultats de 2013 :

- -Prélèvement mi avril
- -Prélèvement mi mai
- -Prélèvement mi juin
- -Prélèvement mi juillet





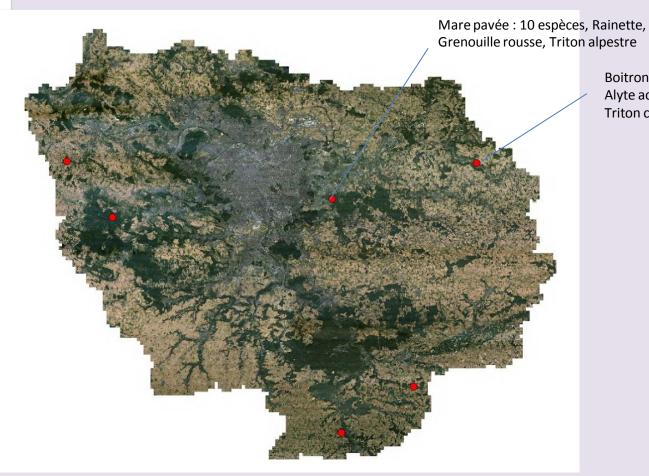












Boitron : X espèces,

Alyte accoucheur, Triton crêté

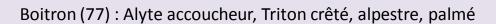


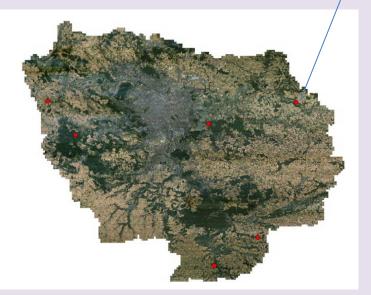












Données historiques P. Rivallin 2010 : également ces 4 espèces ADN en 2013 : tout sauf alpestre (problème expliqué plus haut)















Mare pavée : 10 espèces ! Les 4 tritons de l'est, salamandre, Gr verte, rousse, agile, crapaud commun, rainette



Historique : rainette connue.

ADN 2013 : que 5 espèces (les 4 tritons et le crapaud commun)





Agence régionale pour la nature et la biodiversité

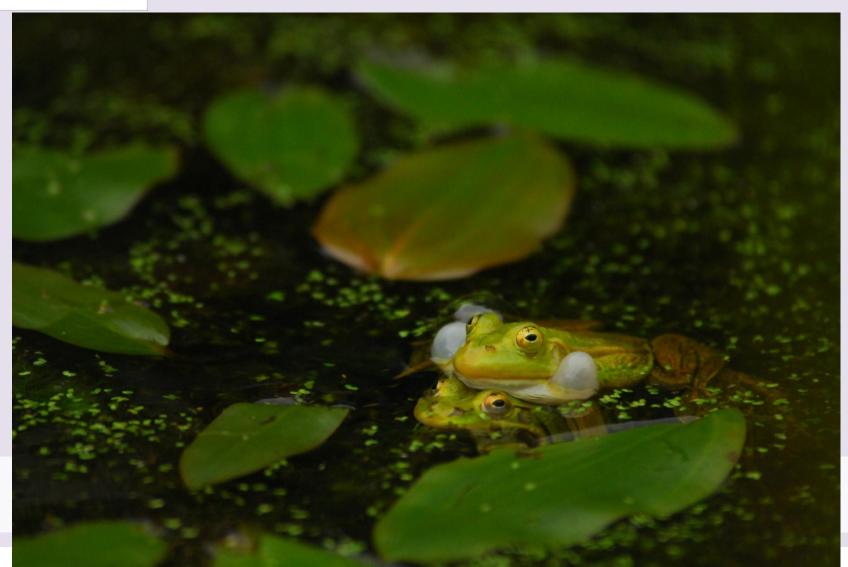
























Montmachoux (77): palmé, crêté, verte et agile; en 2013, Grenouille rousse non retrouvée en 2014. Prélèvement d'avril déjà trop tardif? Pourtant, prélèvement effectué le 19/05 en 2013...(mais année froide)









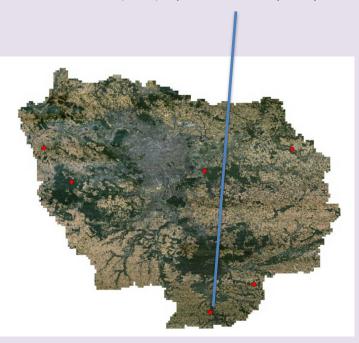








Souppes-sur-Loing (77) : Alyte, Calamite, pelodyte, crapaud commun, Gr verte, agile, Triton palmé! En 2013 (6/05) : que calamite et pelodyte...























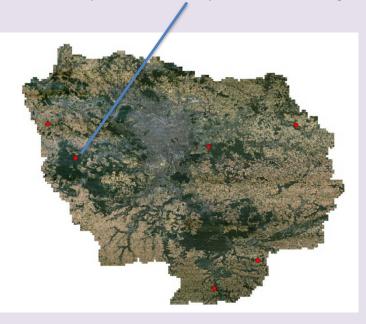








Saint-Léger-en-Yvelines: Tritons marbré, alpestre, palmé, ponctué, Crapaud commun, Salamandre, Grenouille agile, Rainette Obs historiques BD ONF: 9 espèces, avec deux en plus (Grenouille rousse et Triton crêté), et une en moins (Rainette) Seulement 5 esp en 2013 (marbré, palmé, salamandre, agile, crapaud)









Montchauvet (78) : Tr. Palmé, ponctué, crêté, Gr verte, agile, Crapaud commun, Rainette En 2013 : Rainette, palmé, agile

















#### **Resultats**

#### Phénologie de détection de l'ADNe d'amphibiens

<u>Ric</u>	<u>hesse</u>	spéc	<u>itiq</u>	ue

	Total sites de présence	Avril	Mai	Juin	Juillet
Alyte accoucheur	2	0	2	2	2
Crapaud commun	4	4	3	1	0
Crapaud calamite	1	1	1	1	1
Pélodyte ponctué	1	1	1	1	0
Rainette verte	3	1	3	2	1
Grenouille verte	4	2	4	3	4
Grenouille agile	5	5	5	5	3
Grenouille rousse	1	1	1	0	0
Salamandre tachetée	2	2	2	0	1
Triton alpestre	3	3	3	3	3
Triton palmé	6	6	6	5	5
Triton ponctué	3	2	2	2	1
Triton crêté	4	4	4	4	3
Triton marbré	1	1	1	1	1
TOTAL espèces-sites	40	33	38	30	25

	2013	2014	2014 mai
Boitron	3	4	4
Pavée	5	10	10
Montma	5	4	4
Souppes	2	7	7
Ramb	5	8	8
Montch	3	7	5
Moy	3,8	6,7	6,3













#### Quel avenir?

- -Excellent outil pour détecter les espèces, sans biais lié à l'observateur
- très adapté pour suivre la présence d'espèces rares, patrimoniales, envahissantes, pour inventorier plusieurs groupes taxonomiques en une fois...
- -Pas de résultats quantitatifs, ni démographiques (sexe, âge...)
  - → méthode encore peu adaptée aux suivis d'évolutions de populations type STOC
- -Grosse attente pour certains groupes taxonomiques méconnus, possibilité de quantifier la qualité du réseau trophique d'une mare, par ex
  - → nécessité d'accroître la banque de gènes de référence
- -Coût équivalent à celui des inventaires classiques, résultats possiblement plus fiables (ex. 270 euros pour un inventaire ADNe amphibien)













## The future of DNA barcoding?





