

natureparif

Agence régionale pour
la nature et la biodiversité

île de France



Maxime Zucca

Inventaire des mares par l'ADN environnemental

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

natureparif

Agence régionale pour
la nature et la biodiversité

île de France

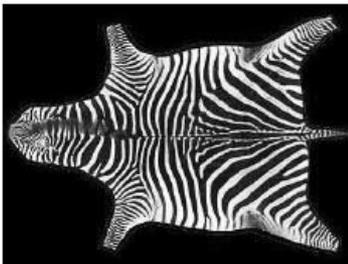


ADN environnemental : un principe simple

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



1,10 €



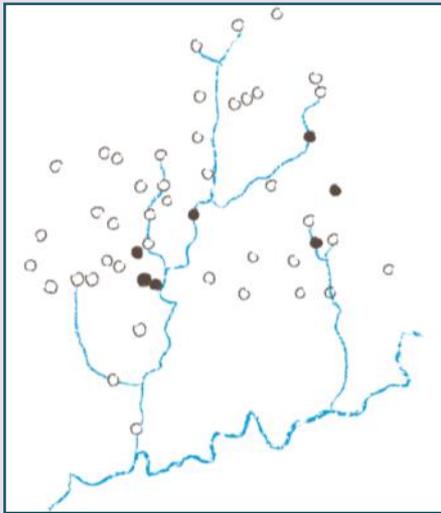
Equus burchelli



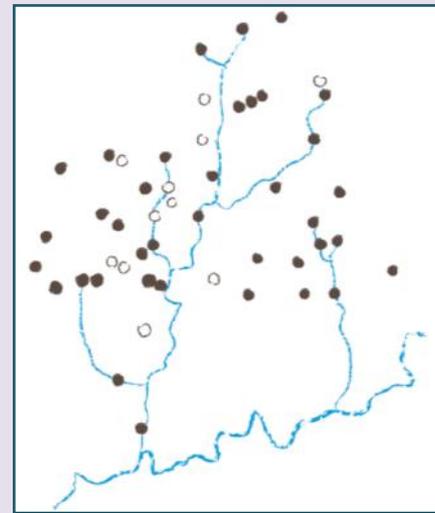
Pourquoi cette étude ?

→ 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**



Inventaire ADNe :
Détection sur **38 sites**



Pourquoi cette étude ?

✓ Performance de l'ADNe

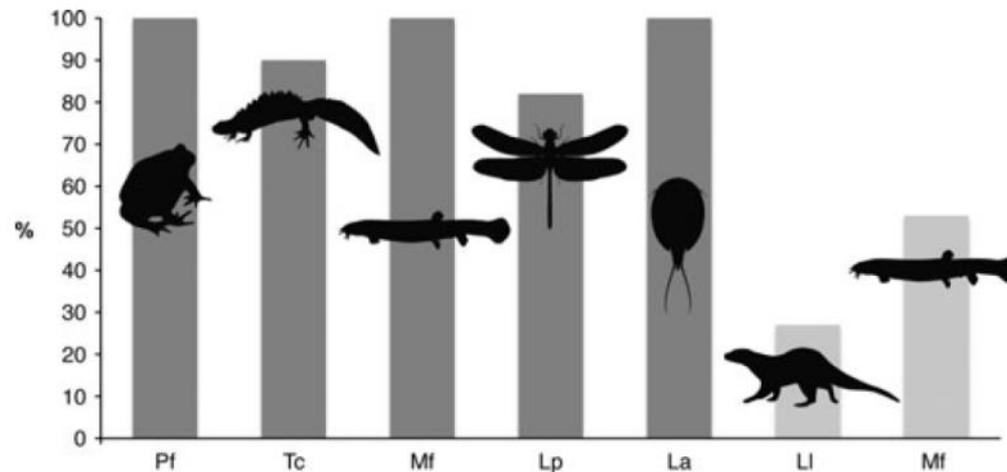


Fig. 2 Environmental DNA detection rates by qPCR in natural freshwater ponds with 100% occurrence of the species confirmed in the field (dark grey) or larger freshwater systems with known occurrence in the area (light grey). Detection rates are given in percentage positive localities out of the total 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 (*Leucorhinia pectoralis*, $n = 11$); crustaceans: La (*Lepidurus apus*, $n = 10$) and mammals: Li (*Lutra lutra*, $n = 15$ streams and lakes).

natureparif

Agence régionale pour
la nature et la biodiversité

île de France



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 (...)

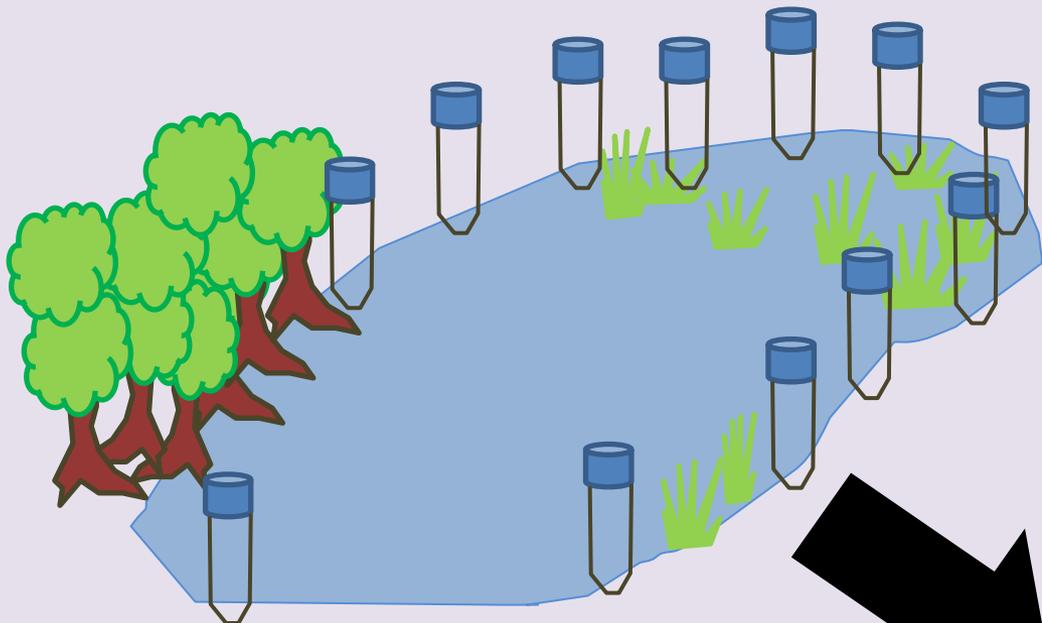
Dans ce but, elle crée, développe, gère et met à jour une base de données susceptible d'être intégrée aux différents systèmes d'informations géographiques régionaux. Elle peut également conduire des opérations d'expérimentations et d'inventaires (...)



La méthode

➤ Etape 1 : échantillonnage

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

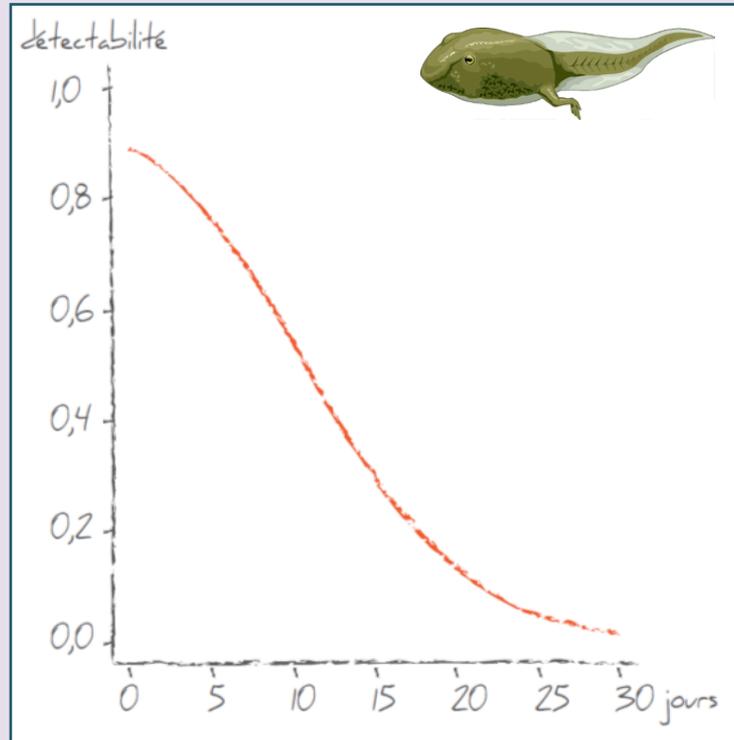


SPYGEN®

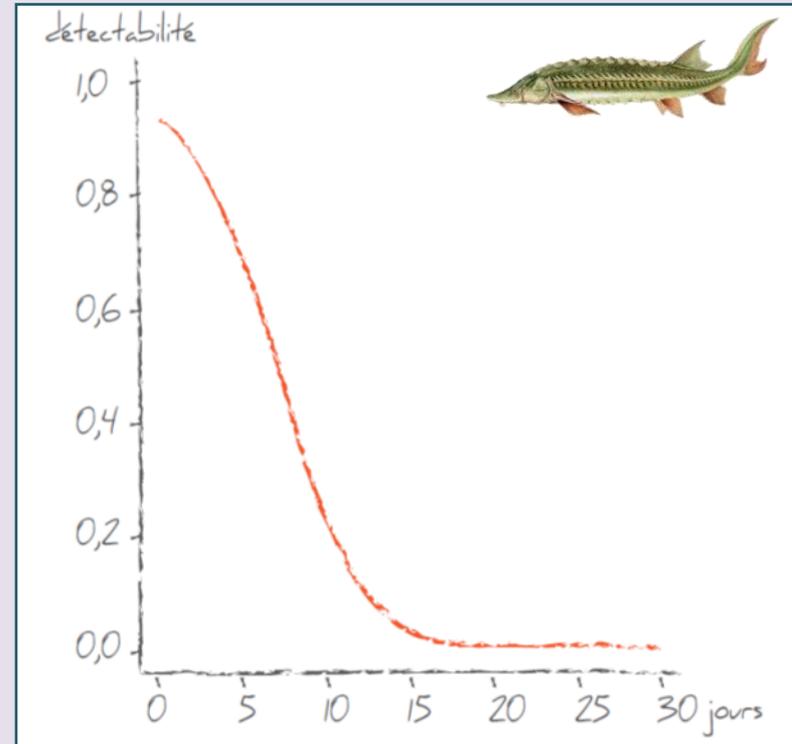




Persistence de l'ADNe en milieu aquatique



Conditions contrôlées



Conditions naturelles

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



La méthode

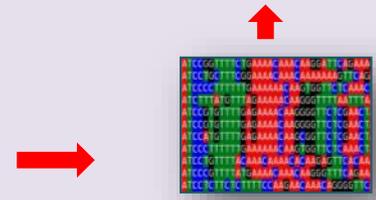
→ eDNA Metabarcoding



Amplification avec
amorces universelles
amphibien

Base de références

Identification des espèces

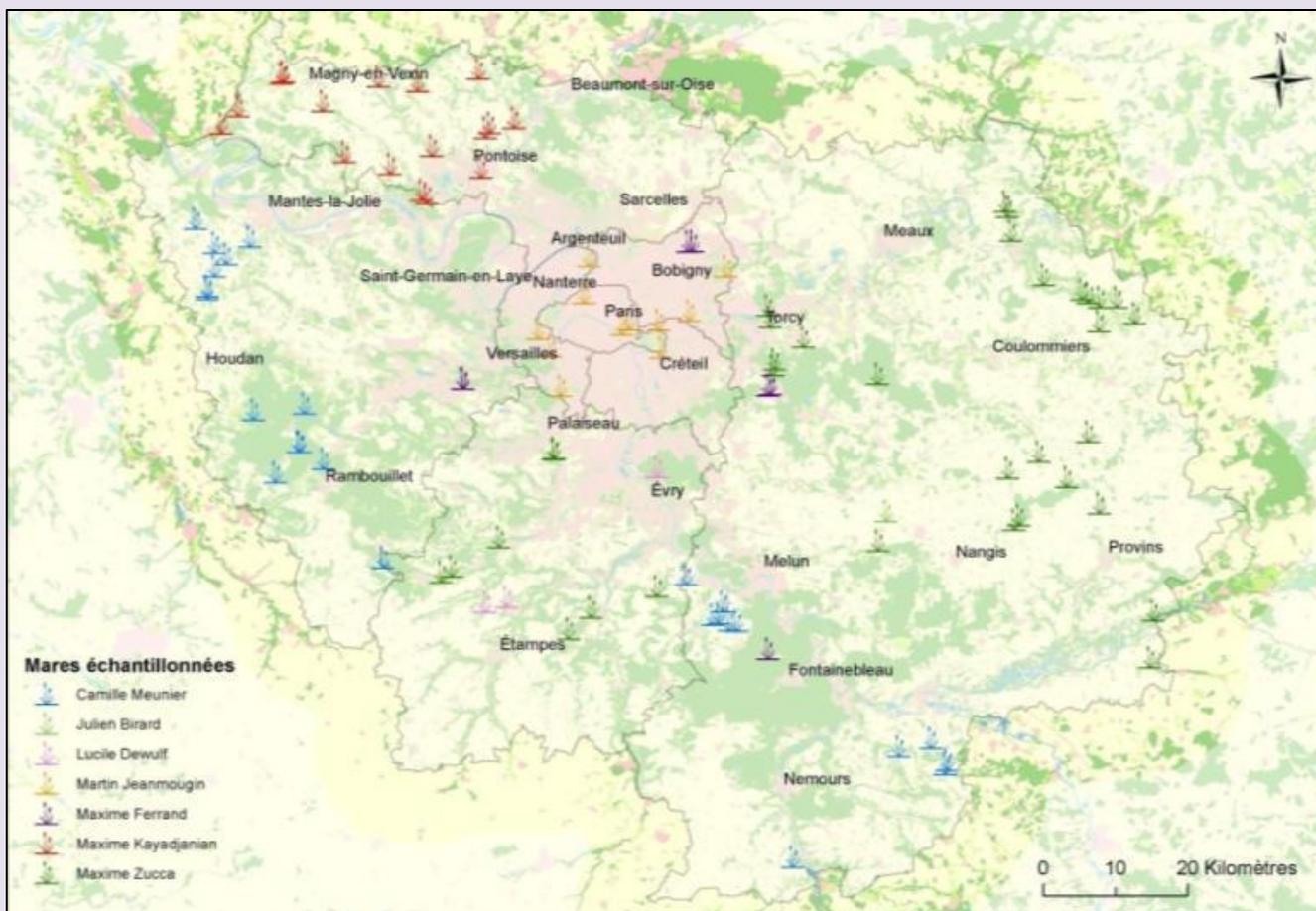


Séquençage NGS
de l'ADN



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**



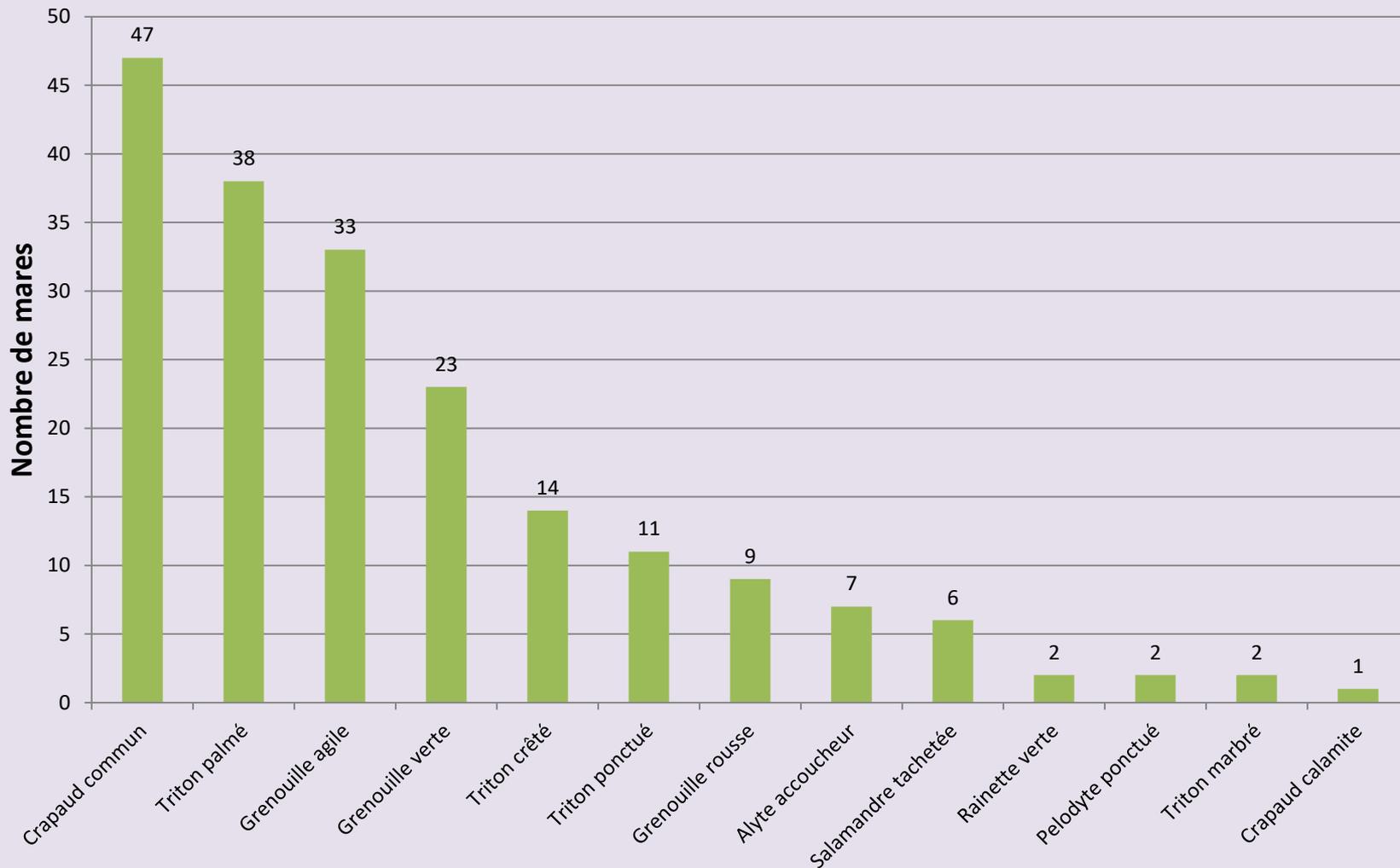
Résultats : Les Amphibiens

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





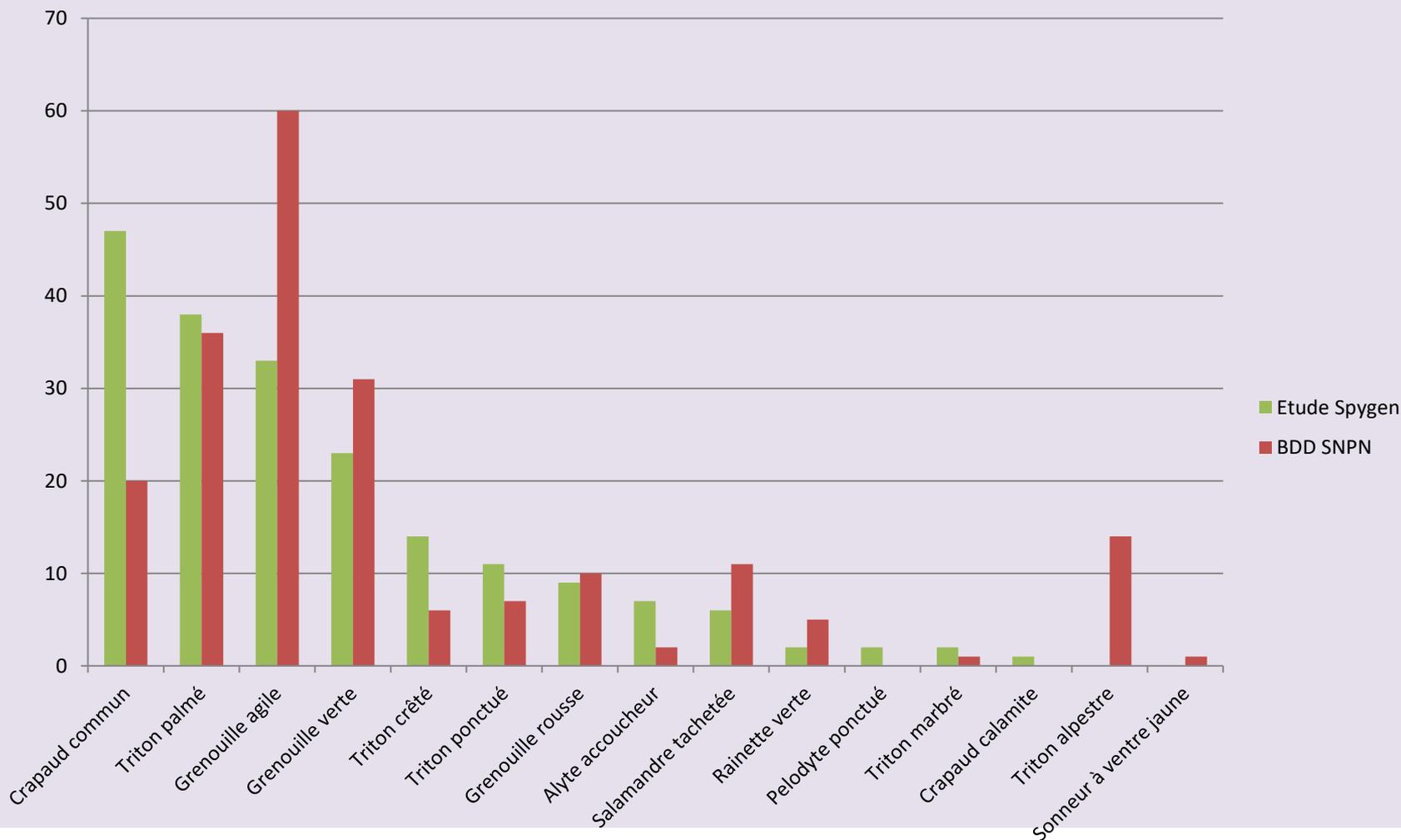
Résultats : les Amphibiens





Résultats : Les Amphibiens

Comparaison avec les données historiques de 460 mares dans la BDD de la SNPN



natureparif

Agence régionale pour
la nature et la biodiversité

île de France



Les Amphibiens

- 2 absents : Triton alpestre et Sonneur à ventre jaune





Résultats : Les Amphibiens

Nom scientifique	Nom commun	Inventaires naturalistes		Inventaire ADNe		Nb total de sites
		Nb sites	Détection (%)	Nb sites	Détection (%)	
<i>Alytes obstetricans</i>	Alyte accoucheur	4	80	1	20	5
<i>Bufo bufo</i>	Crapaud commun	11	79	11	79	14
<i>Bufo calamita</i>	Crapaud calamite	0	N/A	0	N/A	0
<i>Hyla arborea</i>	Rainette verte	1	100	0	0	1
<i>Lissotriton helveticus</i>	Triton palmé	11	79	8	57	14
<i>Lissotriton vulgaris</i>	Triton ponctué	9	75	7	58	12
<i>Pelodytes punctatus</i>	Pelodyte ponctué	1	50	1	50	2
<i>Pelophylax sp.</i>	Grenouille verte	9	90	6	60	10
<i>Rana temporaria</i>	Grenouille rousse	4	100	0	0	4
<i>Rana dalmatina</i>	Grenouille agile	15	88	10	59	17
<i>Salamandra salamandra</i>	Salamandre tachetée	3	75	3	75	4
<i>Triturus cristatus</i>	Triton crêté	5	63	3	38	8
<i>Triturus marmoratus</i>	Triton marbré	2	100	2	100	2
<i>Triturus alpestris</i>	Triton alpestre	5	100	0	0	5

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

natureparif

Agence régionale pour
la nature et la biodiversité

île de France



Résultats, les Amphibiens

Mise en évidence du biais important dû 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)

natureparif

Agence régionale pour
la nature et la biodiversité

île de France



Les résultats en Île-de-France : les Poissons



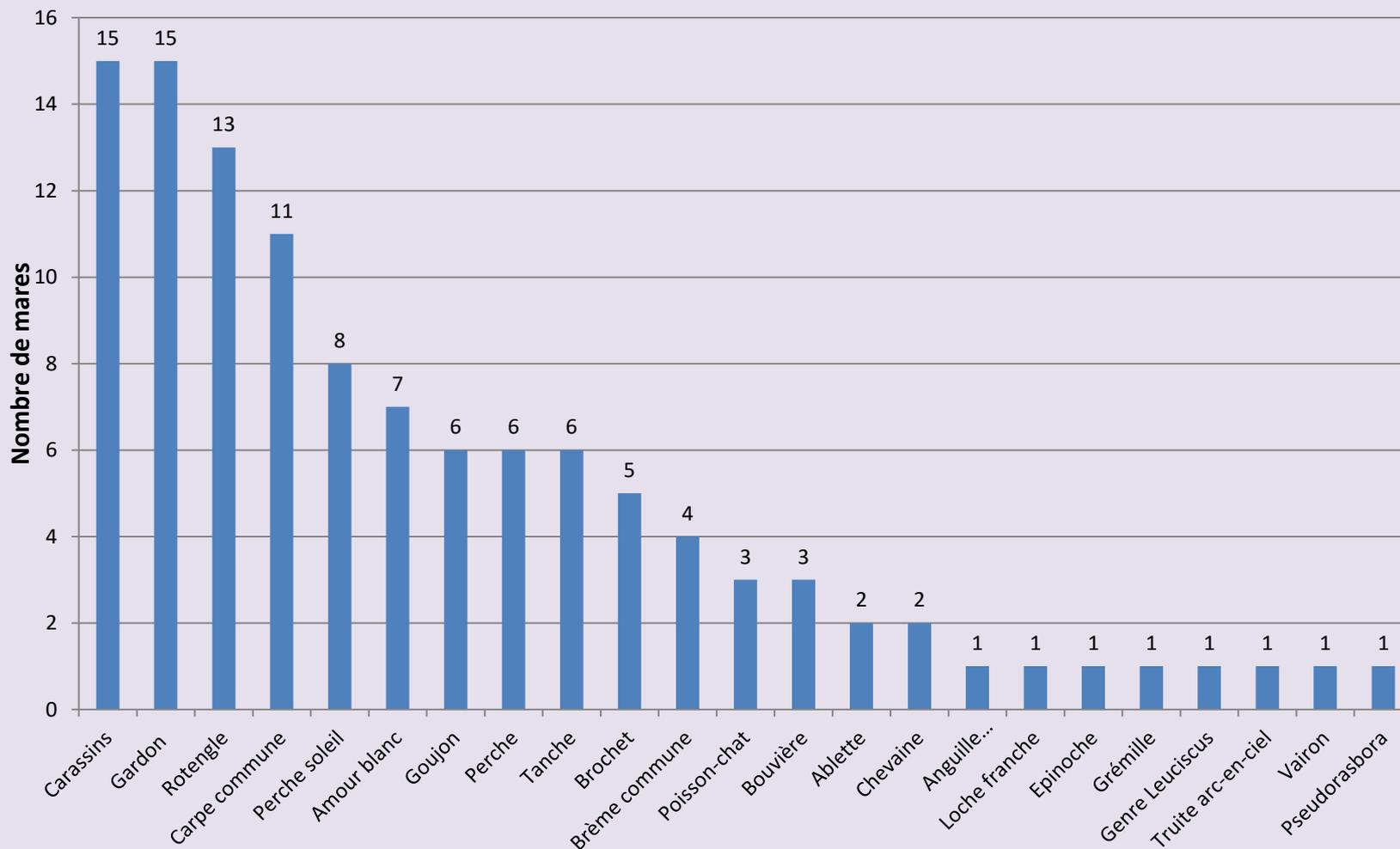
Les Poissons

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





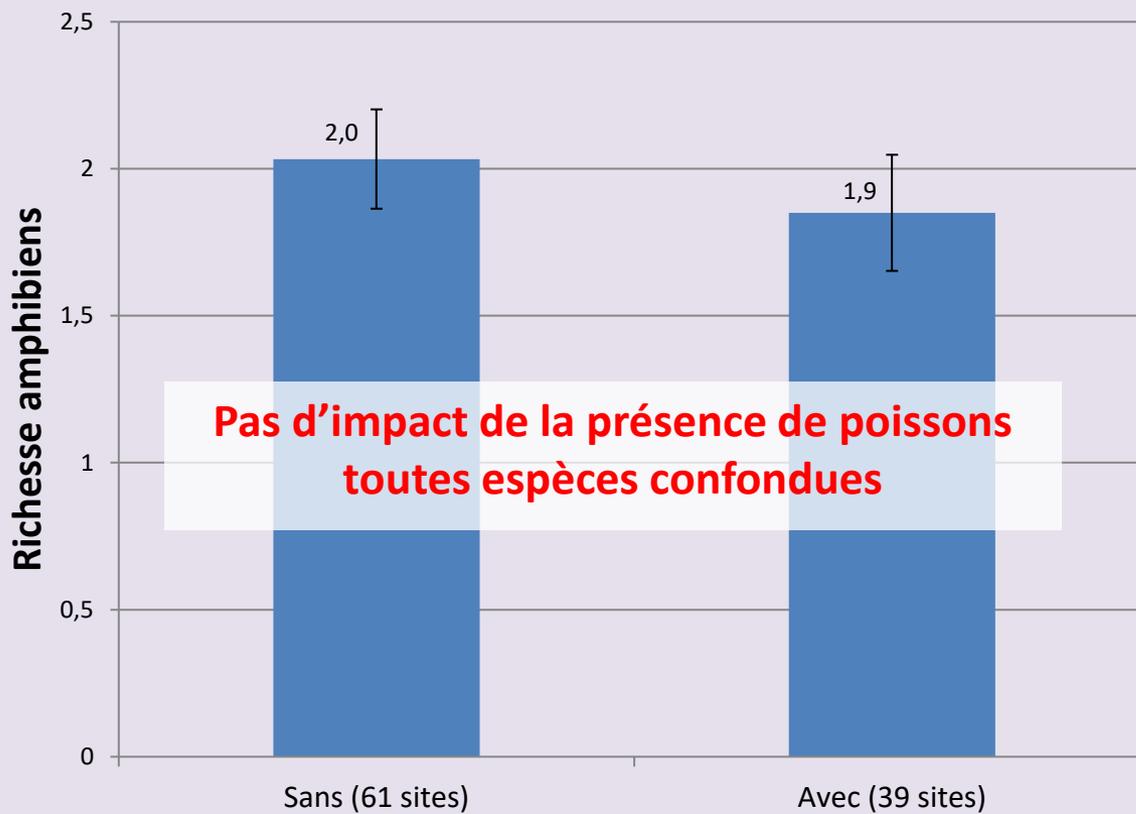
Les Poissons





Amphibiens - Poissons

➤ Comparaison de la richesse en amphibiens





Amphibiens – Poissons carnivores

➤ Comparaison de la richesse en amphibiens



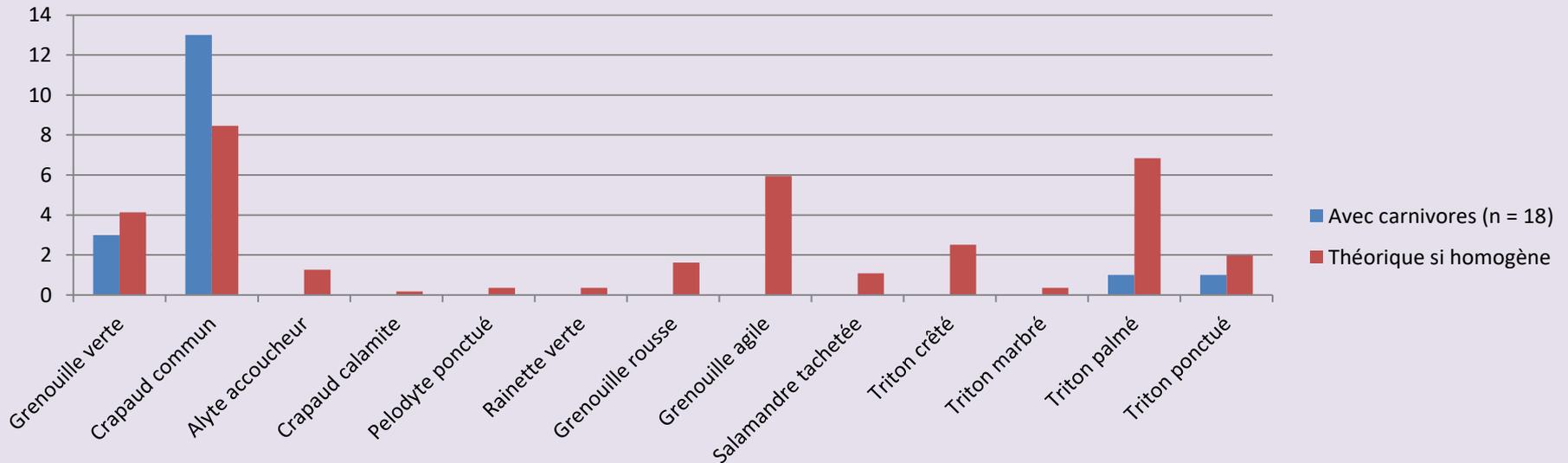
En présence de poissons carnivores, le nombre d'espèces d'amphibiens est plus de deux fois inférieur



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



2^e 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 :

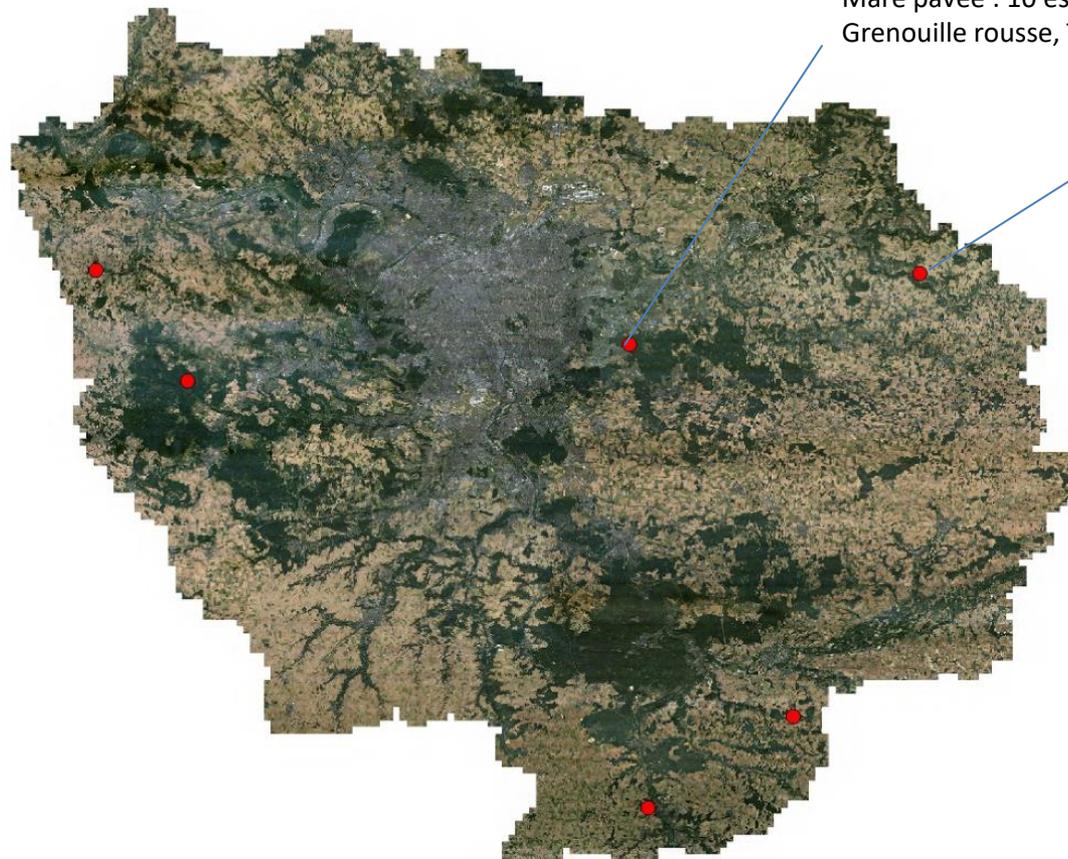
- Prélèvement mi avril
- Prélèvement mi mai
- Prélèvement mi juin
- Prélèvement mi juillet



natureparif

Agence régionale pour
la nature et la biodiversité

île de France



Mare pavée : 10 espèces, Rainette,
Grenouille rousse, Triton alpestre

Boitron : X espèces,
Alyte accoucheur,
Triton crêté

natureparif

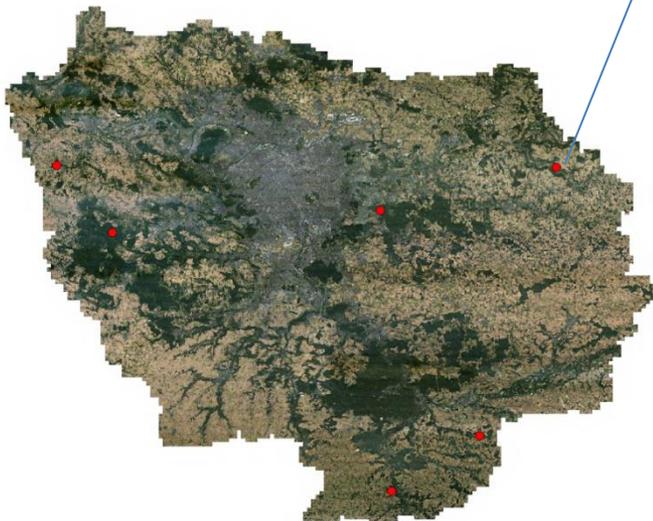
Agence régionale pour
la nature et la biodiversité

île de France



Boitron (77) : Alyte accoucheur, Triton crêté, alpestre, palmé

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



natureparif

Agence régionale pour
la nature et la biodiversité

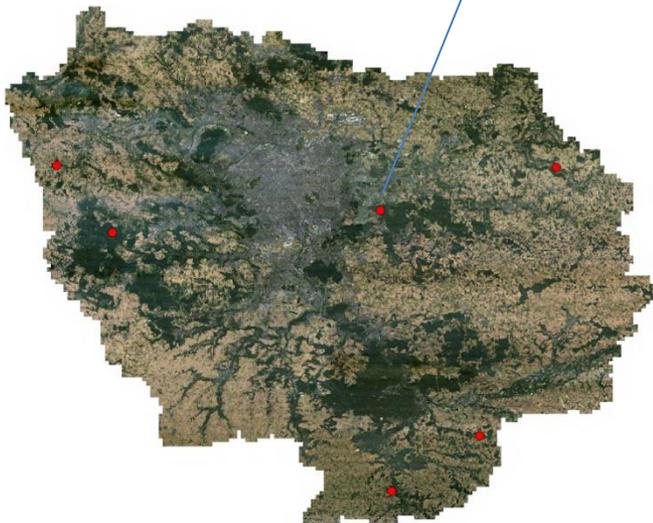
île de France



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)



natureparif

Agence régionale pour
la nature et la biodiversité

île de France



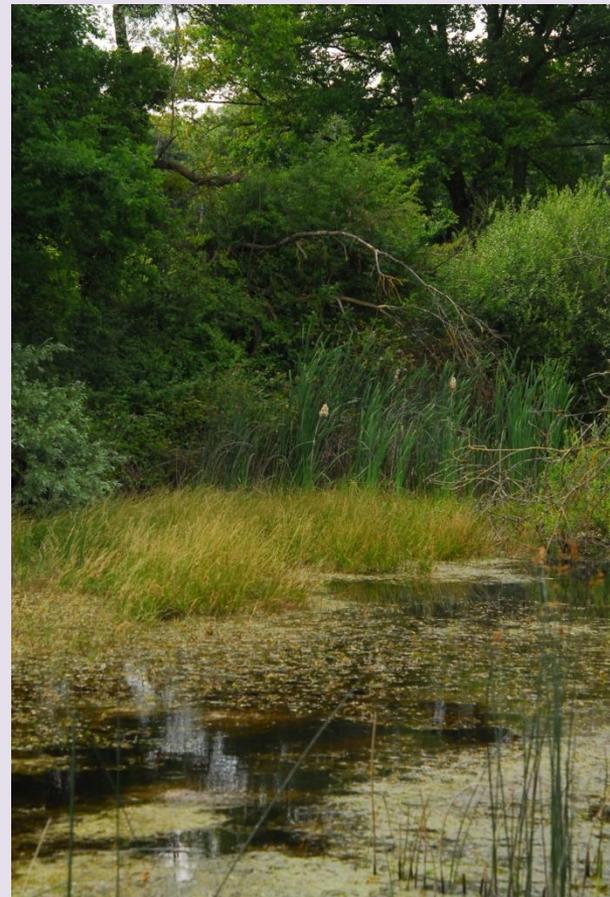
natureparif

Agence régionale pour
la nature et la biodiversité

île de France



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)



natureparif

Agence régionale pour
la nature et la biodiversité

île de France



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



natureparif

Agence régionale pour
la nature et la biodiversité

île de France



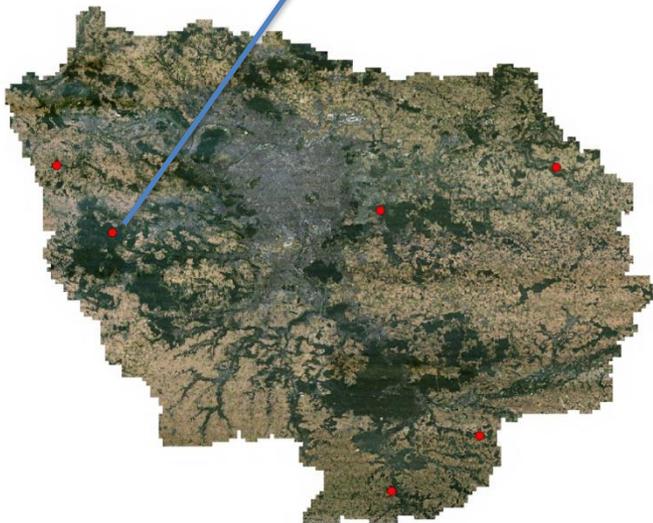
natureparif

Agence régionale pour
la nature et la biodiversité

île de France



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)



natureparif

Agence régionale pour
la nature et la biodiversité

île de France



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

	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

Richesse spécifique

	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

natureparif

Agence régionale pour
la nature et la biodiversité

île de France



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

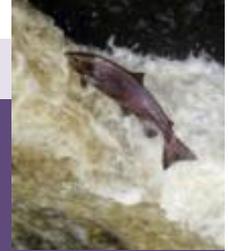
→ nécessité d'accroître la banque de gènes de référence

-Coût équivalent à celui des inventaires classiques, résultats possiblement plus fiables (ex. 270 euros pour un inventaire ADNe amphibien)

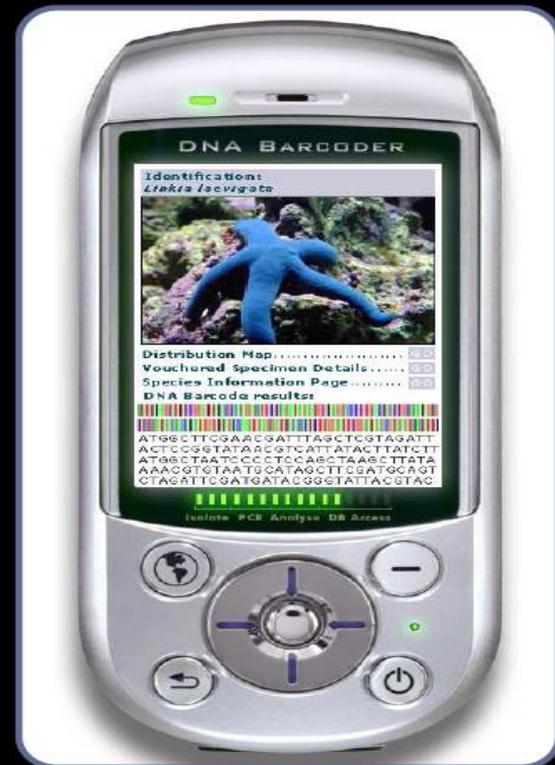
natureparif

Agence régionale pour
la nature et la biodiversité

île de France



The future of DNA barcoding ?



● **Merci pour votre attention !**

