

Focus ADNe



Sommaire

Introduction	6
Matériel & Méthode	8
Eléments de définitions.....	8
Approche multi-spécifique (metabarcoding ou VigiDNA® M).....	8
Approche mono-spécifique (barcoding ou VigiDNA® S).....	8
Avantages et limites	8
Protocole de prélèvement.....	1
Sites de prélèvements	2
Campagne d'échantillonnage 2018.....	10
Résultats	10
Résultats de l'approche mono-spécifique sur l'écrevisse de Louisiane (<i>Procambarus clarki</i>).....	12
Vue d'ensemble de l'approche multi-spécifiques sur le compartiment ichtyologique	12
Résultats par station de l'approche multi-spécifiques sur le compartiment ichtyologique	20
La station du Marais de Serques	23
La station de la Vesseliette.....	24
Le grand large sud	25
La station du Moereleck.....	26
La rivière de la Houlle.....	28
La station Canal1	29
La station Canal2	31
La station du Landsberg.....	33
La station de Saint-Omer.....	34
Le Zieux.....	35
Résultats de l'approche multi-spécifiques sur le Romelaëre.....	36
Comparaison avec les données antérieures sur le Marais Audomarois	41
Discussion	44
Conclusion	47
Ce qu'il faut retenir.....	47
Bibliographie.....	48
Annexes.....	50

Table des figures

Figure 1 : Chronologie des processus d'analyse d'ADNe.

Figure 2 : Présentation d'une partie du matériel utilisé et d'une mise en situation illustrative.

Figure 3 : Illustration d'un habitat représentatif du marais Ouest, la station du «Landsberg».

Figure 4 : Localisation des 13 stations de prélèvements d'ADNe au niveau de la zone Ramsar du marais Audomarois.

Figure 5 : Localisation des 3 prélèvements réalisés sur le plan d'eau principal de la réserve naturelle du Romelaëre.

Figure 6 : Représentation de la zone de prélèvement « Romelaëre 3 ».

Figure 7 : Localisation et réseau hydraulique adjacent aux stations « Serques », « Grand large sud » et « Landsberg ».

Figure 8 : Localisation et réseau hydraulique adjacent aux stations « Moreleck », « Zieux » et « Vesseliette ».

Figure 9 : Localisation et réseau hydraulique adjacent à la station « Omer ».

Figure 10 : Localisation et réseau hydraulique adjacent aux stations « Canal2 » et « Canal1 ».

Figure 11 : Localisation et réseau hydraulique de la rivière de la « Houlle ».

Figure 12 : Prélèvement à l'aide d'une perche télescopique sur une bacôve traditionnelle (station « Romelaëre1»).

Figure 13 : Photos prise sur le secteur de l'Audomarois d'un Amour blanc (sur le Romelaëre), un Gobie à taches noires (sur le canal) et d'un Silure glane (sur le Zieux).

Figure 14 : Un flet retrouvé sur le canal au niveau de la ville d'Arques (62).

Figure 15 : Représentation cartographique schématique des listes de taxons obtenues à l'aide de l'ADNe par station.

Figure 16 : Pourcentages d'abondances relatives obtenue à l'aide des « reads » (nombre de séquences ADN détectés par taxons).

Figure 17 : Schéma représentant le réseau hydrologique de la rivière Basse Meldyck et sa confluence au Canal.

Figure 18 : Représentation schématique des listes obtenues sur la RNN du Romelaëre.

Tableaux

Tableau 1 : Période de prélèvement et rappel des stations.

Tableau 2 : Liste des taxons uniquement identifiable au Genre ou à la Famille à l'heure actuelle.

Tableau 3 : Liste d'espèces détectées dans l'audomarois.

Tableau 4 : Tendances globales obtenue à l'aide de l'ADNe.

Tableau : 5 Listes des espèces patrimoniales détectées sur le marais et leurs statuts IUCN.

Tableau 6 : Impact environnemental et hiérarchisation des « niveaux d'invasions » (DREAL Hdf2014)

Tableau 7 : Récapitulatif des taxons détectés par station.

Tableau 8 : Résultats des analyses ADNe de la station Serques.

Tableau 9 : Résultats des analyses ADNe sur la station Vesseliette.

Tableau 10 : Résultats des analyses ADNe sur la station Grand large sud.

Tableau 11 : Résultats des analyses ADNe sur la station Moreleck.

Tableau 12 : Résultats des analyses ADNe sur la station Houlle.

Tableau 13 : Résultats des analyses ADNe sur la station Canal1.

Tableau 14 : Résultats des analyses ADNe sur la station Canal2.

Tableau 15 : Résultats des analyses ADNe sur la station Landsberg.

Tableau 16 : Résultats des analyses ADNe sur la station Omer.

Tableau 17 : Résultats des analyses ADNe sur la station du Zieux.

Tableau 18 : Résultats des analyses ADNe sur les 3 stations situées sur la RNN du Romelaëre.

Lexique

ADN : Acide désoxyribonucléique

ADNe : ADN environnemental

CAH : projet Connect' AH

DCE : Directive européenne Cadre sur l'Eau

DHFF : Directive Habitat Faune Flore

RNN : Réserve Naturelle Nationale

RCS : Réseau de Contrôle et de Surveillance

AEAP : Agence de l'Eau Artois Picardie

ZNIEFF : Zone Naturelle d'Intérêt Ecologique Faunistique et Floristique

DREAL : Direction Régionale de l'Environnement, de l'Aménagement et du Logement

CEN : Conservatoire des Espaces Naturels

EEE : Espèce Exotique Envahissante

ENS : Espaces Naturels Sensibles

PDPG : Plan Départemental pour la Protection du milieu aquatique et la Gestion des ressources piscicoles

PNR CMO : Parc Naturel Régional Caps et Marais d'Opale

STEP : Station d'épuration

Codes taxons

ABH Able de Heckel (*Leucaspis delineatus*)

ABL Ablette (*Alburnus alburnus*)

ANG Anguille européenne (*Anguilla anguilla*)

BOU Bouvière (*Rhodeus amarus*)

BRB Brème bordelière (*Blicca bjoerkna*)

BRE Brème commune (*Abramis brama*)

BRO Brochet (*Esox lucius*)

CAS Carassin commun (*Carassius carassius*)

CCO Carpe commune (*Cyprinus carpio*)

CHA Chabot (*Cottus sp.*)
CTI Amour blanc/Carpe argentée (*Ctenopharyngodon idella*)
EPI Epinoche (*Gasterosteus aculeatus*)
FLE Flet (*Platichthys flesus*)
GAR Gardon (*Rutilus rutilus*)
GOU Goujon (*Cottus gobio*)
GRE Grémille (*Gymnocephalus cernuus*)
GTN Gobie à taches noires (*Neogobius melanostomus*)
IDE Ide Melanote (*Leuciscus sp.*)
LOE Loche d'étang (*Misgurnus fossilis*)
LOF Loche franche (*Barbatula barbatula*)
LOR Loche de rivière (*Cobitis taenia*)
LPP Lamproie de Planer (*Lampetra planeri*)
LPR Lamproie fluviatile (*Lampetra fluviatilis*)
OBR Ombre commun (*Thymallus thymallus*)
PER Perche commune (*Perca fluviatilis*)
ROT Rotengle (*Scardinius erythrophthalmus*)
SAN Sandre (*Sander lucioperca*)
SAT Saumon (*Salmo salar*)
SIL Silure glane (*Silurus glanis*)
TAC Truite arc-en-ciel (*Ochorhynchus mykiss*)
TAN Tanche (*Tinca tinca*)
TRF Truite (*Salmo trutta*)
TRF Truite Fario (*Salmo trutta*)
OCL Ecrevisse Américaine (*Orconectes limosus*)
PCL Ecrevisse de Louisiane (*Procambarus clarkii*)

Introduction

D'un point de vue plus généraliste, l'étude et la préservation de la biodiversité représentent un enjeu essentiel de notre temps. Cette notion relativement commune du tout à chacun trouve sa source dans les constats alarmants énoncés par de nombreux lanceurs d'alertes et scientifiques. En effet, « 44 % de tous les mollusques d'eau douce, 37 % des poissons d'eau douce, 23 % des amphibiens [...] sont à présent menacés » (A.Cuttelod, coordinatrice de la liste rouge européenne UICN). Même si les écosystèmes d'eau douce ne couvrent que moins de 1% de notre planète contre 71% pour les milieux marins, leurs valeurs en termes de biodiversité n'est plus à prouver. Ces milieux font malgré tout également face à de nombreuses pressions, usages, aménagements, rupture du continuum fluvial et à l'introduction d'espèces invasives (Dudgeon et al. 2006). Acquérir des connaissances sur la biodiversité aquatique est ainsi primordiale en vue de la protéger et de la conserver voire d'optimiser sa protection.

La loi pour la reconquête de la biodiversité, de la nature et des paysages du 9 août 2016 introduit plusieurs évolutions en matière de valorisation de la biodiversité, de connaissance ou de protection. C'est dans le cadre des initiatives en faveur de la biodiversité qu'opère le projet FBMA dont l'essence même est l'analyse ichtyologique du marais Audomarois.

Une telle analyse se doit également d'être épaulée par des méthodes novatrices et récentes. En effet, lors de la mise en place d'inventaires piscicoles (pêches électriques, nasses, verveux...), des interrogations restent en suspens quant à l'échantillonnage de certaines espèces cibles à forte valeur patrimoniale telles que les Loches (d'étang, franche et de rivière), la Bouvière ou les Lamproies (marine, fluviale et de Planer). Certains de ces taxons peuvent être plus difficiles à échantillonner que d'autres comme la Loche d'étang (*Misgurnus fossilis*) de par ses mœurs et sa bio-écologie ou d'autres de par leurs densités faibles et donc *a fortiori* une répartition spatiale limitée (Silure, Bouvière...).

Afin de garantir l'exhaustivité de notre démarche, la probabilité de détection se doit d'être la meilleure possible pour éventuellement pouvoir valider la présence de taxons à forts enjeux. Ceci même si ces espèces sont présentes en très faibles effectifs. La technique novatrice de l'étude de l'ADN environnementale peut permettre de remplir ces objectifs (Taberlet et al. 2012, Jean 2013). Cette méthode innovante permet de détecter la présence de certains taxons aquatiques dans un prélèvement d'eau. Cette approche, nécessitant uniquement un prélèvement d'eau, est par définition non intrusive, rapide et relativement exhaustive pour un linéaire échantillonné. Plusieurs retours d'expériences prometteurs existent déjà sur les poissons, amphibiens, mammifères aquatiques, mollusques et certains crustacés (Ficetola et al. 2008) ou encore pour mettre en évidence la présence d'espèces exotiques (Goldberg et al. 2011, Dejean et al. 2012, Treguier et al. 2014). Dans notre cas nous avons entrepris un partenariat avec le laboratoire spécialisé SpyGen basé à Le Bourget du Lac (73375).

De plus cette méthode prend tout son sens dans un milieu de type marais doux endigué et polderisé comme le Marais Audomarois qui est un haut lieu de la biodiversité. Ce territoire est complexe à appréhender en termes d'analyse piscicole de par ses 700 km de watergangs (fossés) et 170 km de wateringues (rivières navigables) et ses secteurs parfois difficilement accessibles.

L'ADNe peut nous aider à acquérir une image précise de la biodiversité astacicole et piscicole qualitative et spatiale du marais Audomarois. Les résultats obtenus lors de ce focus centré sur l'ADNe nous permettront d'aiguiller les recherches, les zones de protections ou encore de proposer des préconisations de gestion. Une attention particulière sera également apportée au site naturel des

étangs du Romelaëre (RNN et également plan d'eau suivi par l'AEAP dans le cadre de la DCE) notamment grâce aux données d'inventaires historiquement existantes.

Matériel & Méthode

Eléments de définitions

L'ADN environnemental est défini tel que « l'ADN pouvant être extrait à partir d'échantillons environnementaux sans avoir besoin d'isoler au préalable des individus cibles » (Taberlet et al. 2012). Dans notre cas, cet ADN sera extrait à partir de prélèvements d'eau, le groupe cible se trouvant être le compartiment piscicole et l'écrevisse de Louisiane (*Procambarus clarkii*).



Cet ADN se compose majoritairement d'ADN mitochondriale ou nucléaire provenant de cellules encore vivantes, de gamètes ou de cellules dégradées. L'ADNe présent dans l'eau est également sensible à certains facteurs environnementaux tels que les UV, la température...ce qui conditionne son temps de présence dans le milieu (Dejean et al., 2011).

L'ADN extrait est ensuite amplifié par PCR (Polymerase Chain Reaction) grâce à des couples d'amorces spécifiques. Enfin, on détermine la présence ou l'absence de l'espèce ciblée (Figure1). Il existe deux approches différentes (proposées par le laboratoire SpyGen) qui sont : l'approche multi-spécifique et mono-spécifique.

Approche multi-spécifique (Metabarcoding ou VigiDNA® M)

Cette technique permet de détecter un ensemble d'espèces d'un groupe taxonomique donné. Cela fournit une liste en termes de présence. Ceci à l'aide d'amorces universelles et d'une amplification de type PCR et un séquençage nouvelle génération avec une base de références. Cette approche est utilisée dans notre cas pour l'étude du compartiment piscicole.

Approche mono-spécifique (Barcoding ou VigiDNA® S)

Cette technique permet de détecter la présence d'un seul taxon cible avec une plus grande précision. Elle est souvent utilisée dans le cadre de recherche d'espèces rares, menacées ou invasives. L'amplification dans ce cas est de type qPCR (dit en temps réel) avec un couple d'amorces spécifiques. Cette technique est utilisée dans notre cas pour valider ou non la présence de l'écrevisse de Louisiane (*Procambarus clarkii*) sur nos sites.

Figure 1 : Chronologie des processus d'analyse d'ADNe (SpyGen)

Avantages et limites

L'analyse de l'ADNe est une méthode novatrice et récente d'analyse environnementale. Néanmoins quelques études similaires et retours d'expériences récents sur les poissons existent (Valentini et al. 2015, Sigsgaard et al. 2015, Civade et al. 2016, Back et Kleinprintz

FDAAPPMA59 2018). Ces divers retours permettent de lister un certain nombre de caractéristiques propres à la méthode. En effet, la technique de l'ADNe présente certains avantages et certaines limites.

- L'approche ADNe est une méthode non-intrusive qui peut être mise en place très facilement et avec un déploiement de matériel réduit sans que cela n'engendre aucun désagrément sur des sites sensibles où d'autres compartiments biologiques sont évidemment présents (compartiment ornithologique).
- Il est aussi possible d'obtenir une liste de taxons sans aucune donnée historique passée (dans le cas d'une analyse multi-spécifique VigiDNA[®]M).
- Selon la bibliographie, il semble que la technique est particulièrement à même de mettre en évidence des taxons cibles dans des grands milieux (lacs, plans d'eau) ou des zones difficiles à échantillonner (conductivité trop élevée, difficulté d'accès, matériels...).
- La mise en place de l'échantillonnage demande aussi beaucoup moins de personnels qu'un inventaire par pêche à l'électricité. Une ou deux personnes sont suffisantes pour réaliser les prélèvements.
- Néanmoins l'expertise ADNe n'apporte pas de notion de biomasse, de taille ou de densité (information uniquement semi-quantitative grâce au nombre des réplicats ou des séquences).
- La diversité spécifique obtenue peut parfois être plus importante sur les grands milieux échantillonnés mais aussi plus faible comme sur les milieux lotiques de faibles gabarits facilement échantillonnables par pêche électrique.
- Il est important de tenir compte de la durabilité de l'ADN dans le milieu. L'ADN reste plus ou moins longtemps sur la station en fonction de la température ou des UV qui peuvent le dégrader. En milieu lotique, l'ADN peut être détecté bien plus en aval par rapport à la position en amont de l'espèce dans le milieu.

Actuellement les inventaires piscicoles classiques et l'ADNe sont des méthodes très complémentaires. Mais l'ADNe se trouve être un formidable outil de détection ou de veille environnementale.

Prérequis

Le protocole fut élaboré à l'aide de l'expertise du laboratoire SpyGen. Dans le cadre de l'étude du marais Audomarois, certaines spécificités nous ont conduits en premier lieu à l'élaboration d'un protocole spécifique. En effet, la turbidité élevée de l'eau du marais (bloom algale, MES) peut provoquer un colmatage de la membrane des cartouches de prélèvements. Celui-ci s'appuyait donc sur l'usage de deux grands sacs stériles dans lesquels était prélevé un certain volume d'eau en vue d'être ensuite homogénéisé puis filtré.

Par la suite ce protocole spécialisé fut laissé de côté au vue du colmatage restant minime lors des prélèvements.

Les opérateurs ayant réalisés les prélèvements d'eau ont eu pour prérequis de passer une formation en interne avec SpyGen. Cette formation avait pour but d'optimiser les prélèvements, de mettre au courant des risques de contamination et d'apporter une certification aux futurs écologues préleveurs (appartenance au réseau VigiDNA®).

Protocole d'échantillonnage

Le protocole de prélèvement se trouve être le même selon la technique d'analyse choisie (multi-spécifique ou mono-spécifique), mais diffère en fonction du milieu à échantillonner.

- En milieu lentique de taille modeste, les prélèvements sont réalisés à raison de 20 points d'échantillonnages d'eau puis filtrés dans la cartouche à l'aide d'une seringue
- En milieu lotique, les prélèvements sont réalisés à l'aide d'une pompe péristaltique qui filtre l'eau durant un temps donné.

Dans le cas du secteur du marais Audomarois, les eaux sont relativement turbides, très lenticques et d'une profondeur moyenne de 2,5m. Le protocole utilisé fut donc le suivant (élaborer à l'aide de l'expertise du laboratoire SpyGen) :

1. Préparation du matériel (capsule de filtration, pompe et perche) et étiquetage à l'aide de gants stériles et de sachets en plastique afin d'éviter toutes contaminations.
2. Positionnement de l'extrémité du tuyau sans crépine du sachet et insertion de la capsule de filtration en respectant le sens d'écoulement.
3. Placement du tuyau dans la pompe péristaltique dite Vampire Sampler® (Figure 2).
4. Fixer l'extrémité du tuyau avec crépine sur la perche préalablement munie d'une protection plastique.
5. Filtration de l'eau à l'aide du Vampire Sampler® pendant 30 min (filtration d'1L/min soit 30 L filtrés au total) ou jusqu'à saturation de la capsule de filtration. Passage en bateau à vitesse réduite (5km/h) et continue de l'aval vers l'amont de la station pressentie (environ 2,5km de linéaire). Attention : pas de pause de plus de 5min pour ne pas assécher la membrane.
6. Arrêt de la filtration et conditionnement de la cartouche avec une solution tampon de conservation permettant de fixer l'ADN. Fermeture complète de la capsule.

N.B. : Une attention toute particulière est évidemment apportée aux risques de contamination. Pour pallier à ce risque, une paire de gants neufs est utilisée en amont de l'étape 1 et de l'étape 5. L'opérateur doit rester attentif à sa manipulation afin de la réduire au maximum les risques. De plus, l'opérateur se doit de placer la crépine à la proue de l'embarcation et ne jamais repasser deux fois au même endroit.

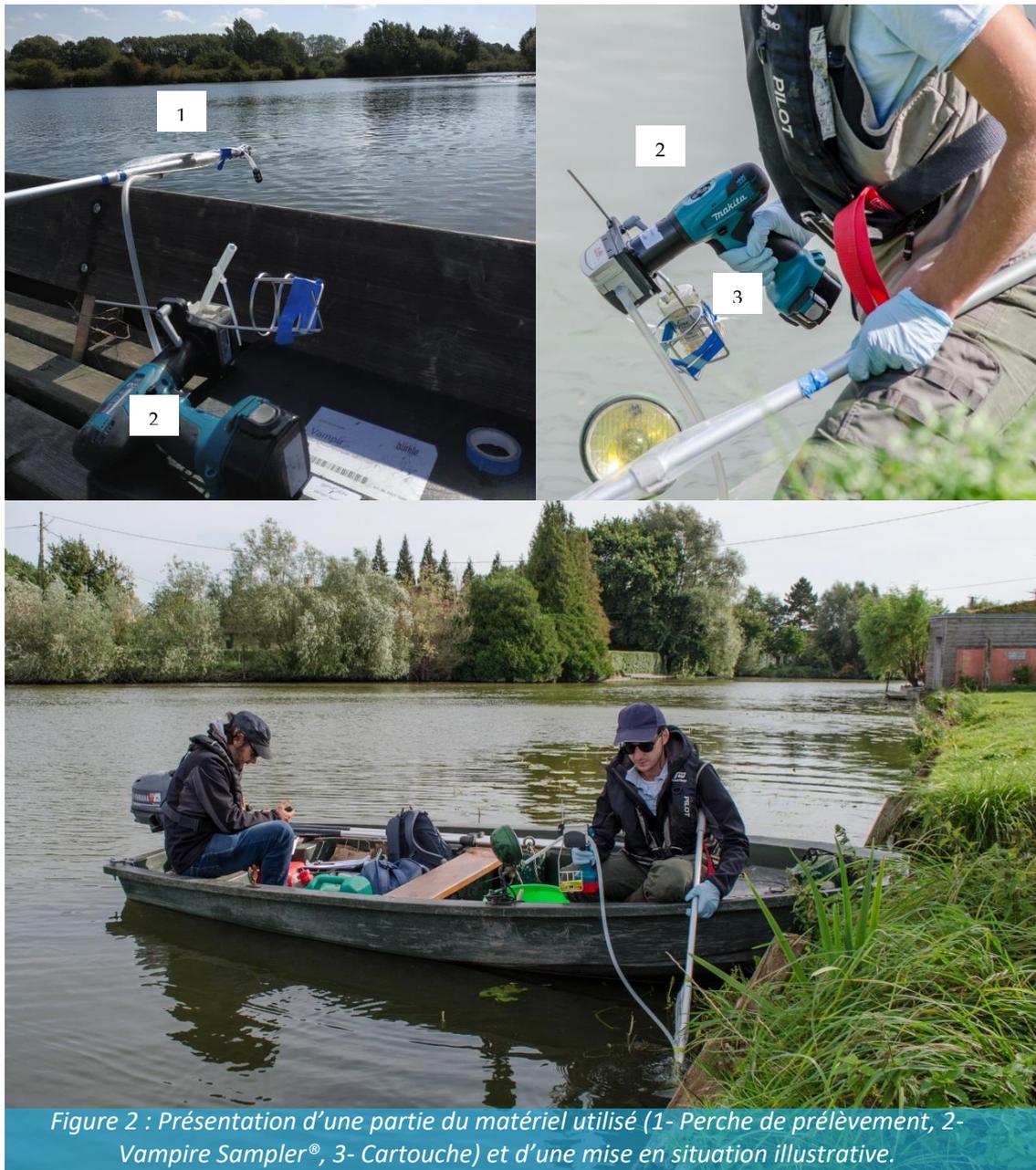


Figure 2 : Présentation d'une partie du matériel utilisé (1- Perche de prélèvement, 2- Vampire Sampler®, 3- Cartouche) et d'une mise en situation illustrative.

Sites de prélèvements

Le marais Audomarois

Le choix des sites de prélèvements s'est porté au total sur 13 stations ADNe afin d'obtenir un maillage large de la plupart (si ce n'est de l'ensemble) des zones du marais Audomarois (Figure3). Chaque site a été échantillonné avec le même protocole en embarcation légère décrit précédemment. Le choix des stations à prospecter a été conditionné par différents critères tels que :

- La recherche d'espèces à forte valeur patrimoniale comme la Loche d'étang ou la Bouvière.
- La recherche d'espèces exotiques tels que : l'Ecrevisse de Louisiane ou le Gobie à tâches noires.
- La prise en compte des différentes entités hydrauliques du marais à savoir :
 - L'Ouest (3) et L'Est (3) de la voie ferré
 - La rivière de la Houlle (1)
 - Les canaux au Nord de la ville de saint Omer (1)
 - Le bief du canal (2)
 - ainsi que la RNN du Romelaëre (3).
 - Soit 13 prélèvements au total. Ces différentes entités ou complexes découpés seront décrits ci-dessous.
- Superposer deux des stations ADNe (Grand large sud et Zieux) aux stations du focus RCS afin de les comparer aux résultats obtenus lors des pêches d'inventaires.



Figure 3 : Illustration d'un habitat représentatif du marais Ouest, la station du « Landsberg ».

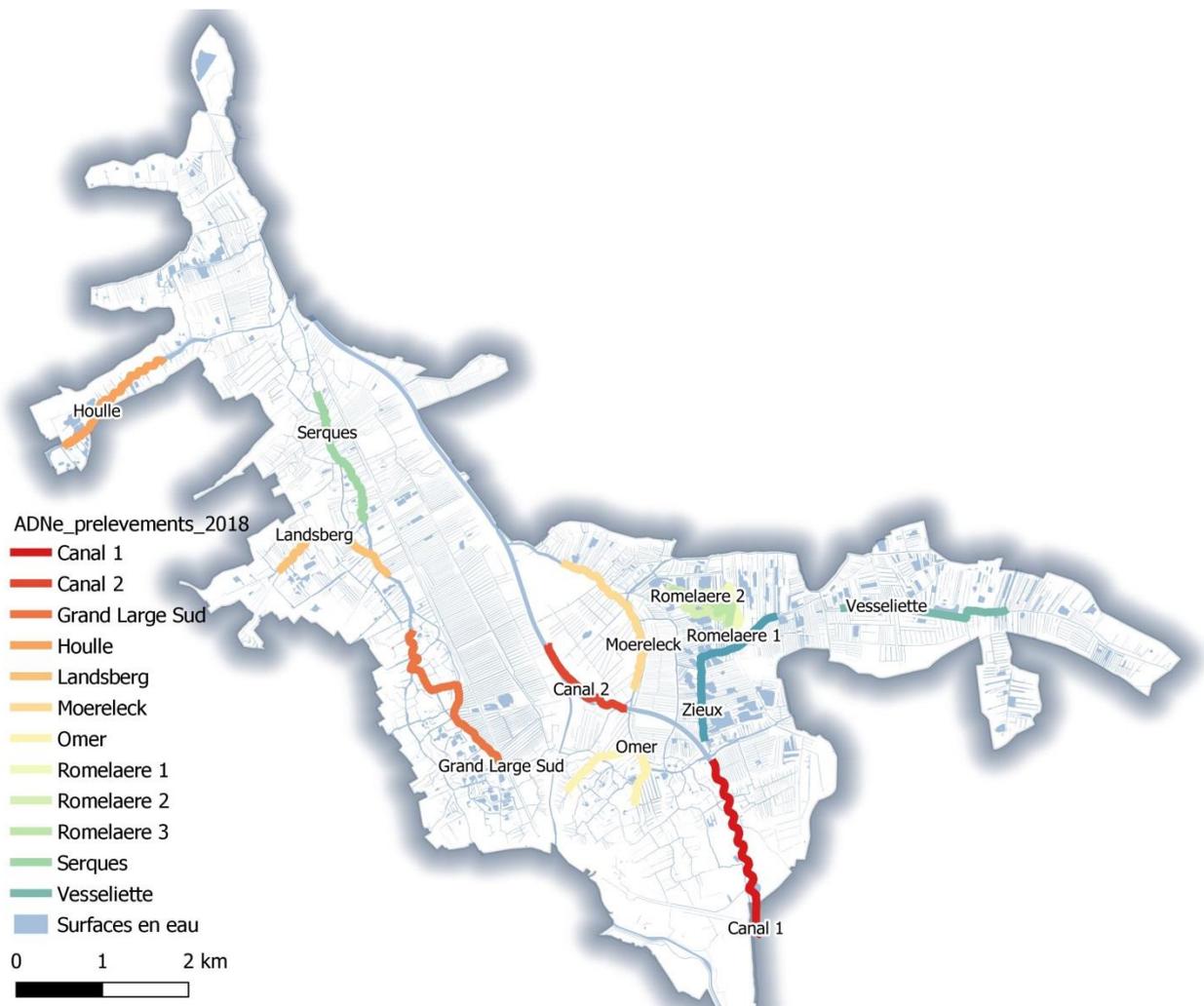


Figure 4 : Localisation des 13 stations de prélèvements d'ADNe au niveau de la zone Ramsar du marais Audomarois.

La réserve naturel des étangs du Romelaëre

En tant que plan d'eau DCE et RNN, une attention toute particulière est portée aux étangs du Romelaëre avec 3 stations réparties à l'aide des conseils du laboratoire SpyGen. Un prélèvement a été fait en berge nord, un autre en berge sud et le troisième a été réalisé en zigzag au centre de l'étang principal (Figure5).

Cette réserve correspond à une ancienne zone de tourbière exploitée depuis la période du Moyen-Age. Classé depuis 2008, le site est en gestion par le syndicat mixte Eden62 qui opère historiquement des suivis faunistiques et botaniques. Haut lieu de nature du département du Pas-de-Calais, cette réserve est le refuge de plus de 250 espèces de plantes, 200 d'oiseaux et 17 de poissons. Celle-ci couvre une superficie totale d'environ 104 hectares regroupant des habitats variés. La surface en eau quant à elle représente 50 hectares de casiers hydrauliques, de fossés et d'un important plan d'eau central. Les habitats aquatiques retrouvés sur l'étang principal au centre du site semblent propices à la présence de nombreuses espèces de poissons dont la Loche d'étang (suspectée jusqu'à aujourd'hui).

En effet, la profondeur du plan d'eau est en moyenne de 2,5m, relativement uniforme. Le fond est tourbeux et une végétation aquatique luxuriante s'y développe notamment (Figure6).

Les résultats des analyses d'ADN sur le Romelaëre seront traités dans une section à part.



Figure 5bis : Localisation des 3 prélèvements réalisés sur le plan d'eau principal et périmètre de la Réserve Naturelle Nationale du Romelaëre.



Figure 6 : Prise de vue de la zone de prélèvement en pleine eau « Romelaëre 3 ».

Description des autres complexes

- L'Ouest du marais Audomarois

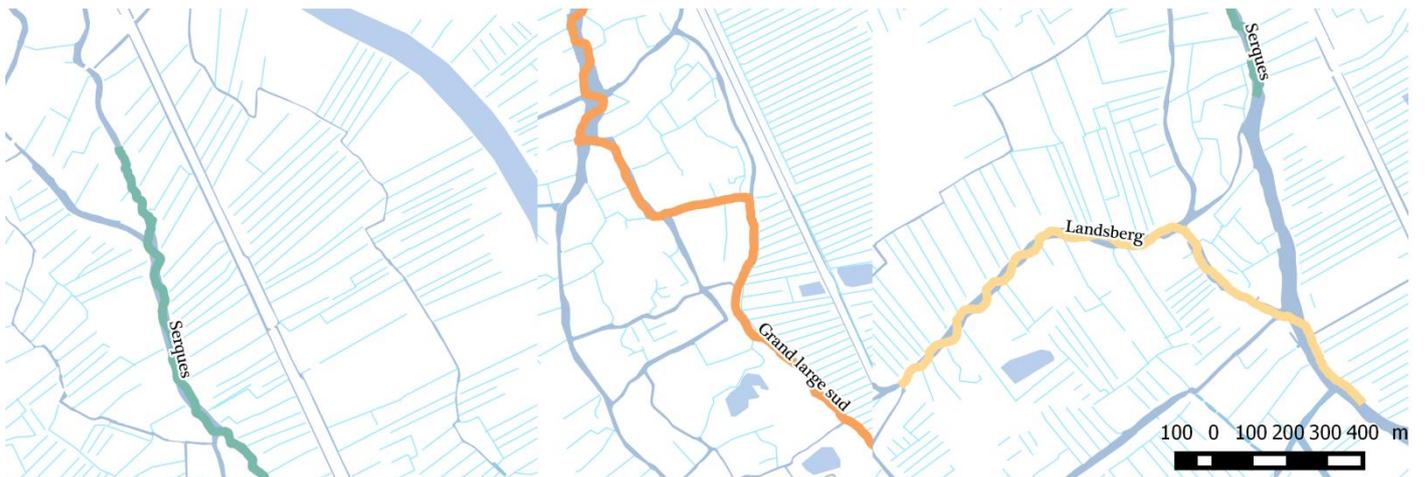


Figure 7 : Localisation et réseau hydraulique adjacent aux stations « Serques », « Grand large sud » et « Landsberg » respectivement de gauche à droite.

- L'Est du marais Audomarois

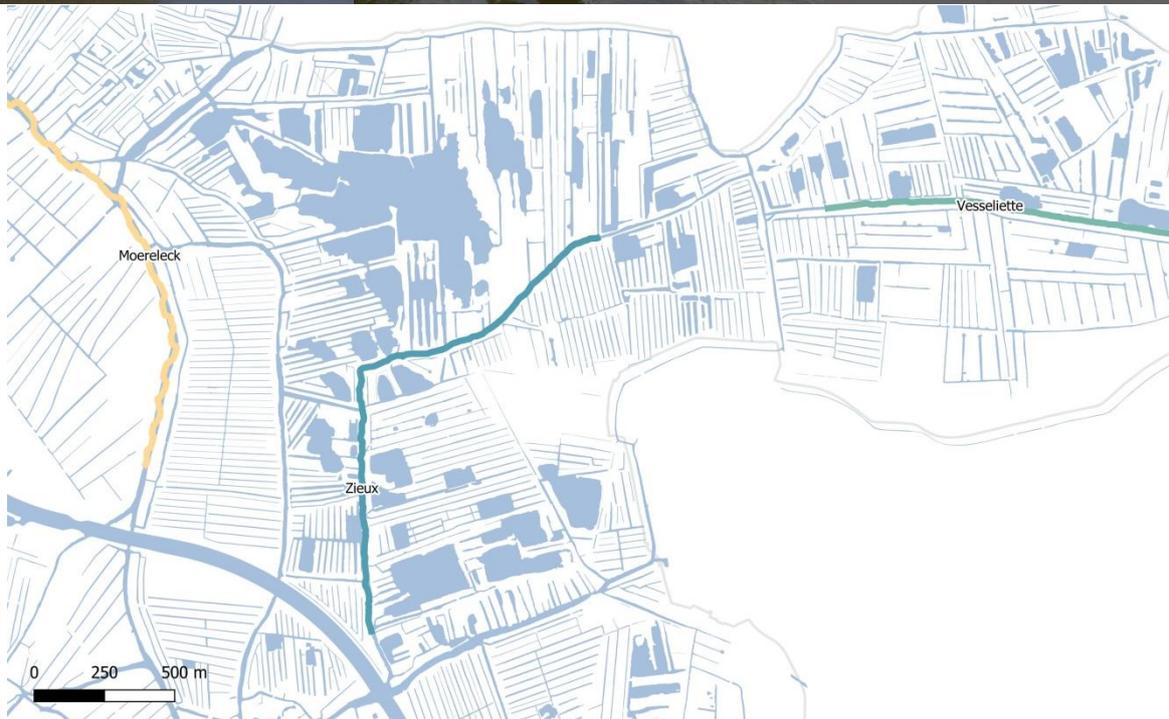


Figure 8 : Localisation et réseau hydraulique adjacent aux stations « Moreleck », « Zieux » et « Vesseliette » respectivement de gauche à droite.

- Les canaux au nord de la ville de saint Omer

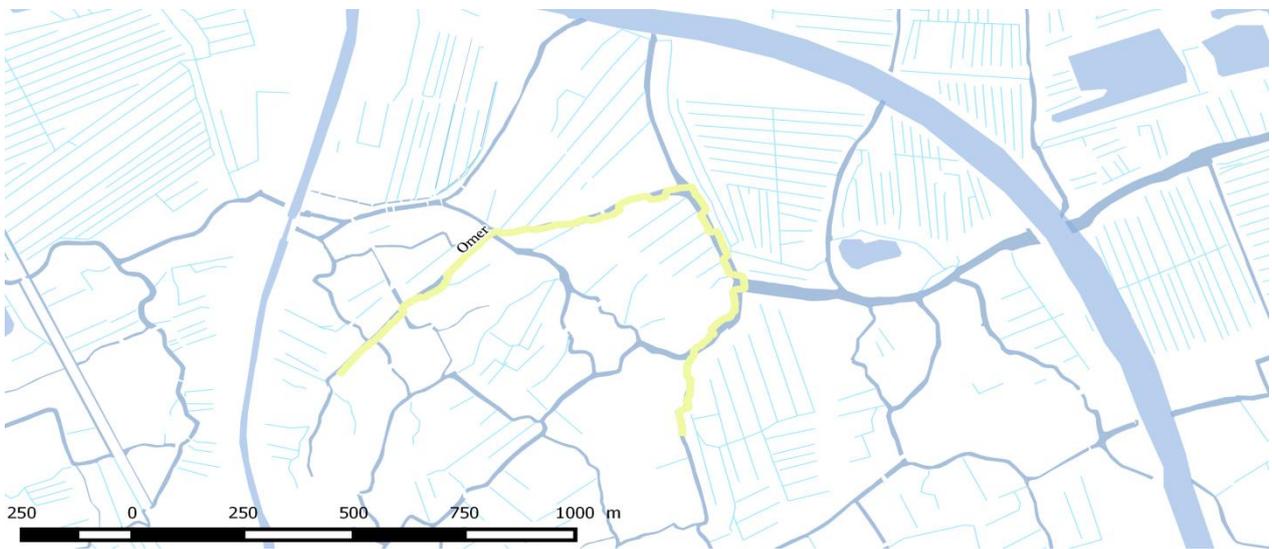


Figure 9 : Localisation et réseau hydraulique adjacent à la station « Omer ».

- Le Canal à Grand gabarit



Figure 10 : Localisation et réseau hydraulique adjacent aux stations « Canal2 » et « Canal1 » située à l'aval de l'écluse des Flandres, respectivement de gauche à droite.

- La rivière de la Houlle

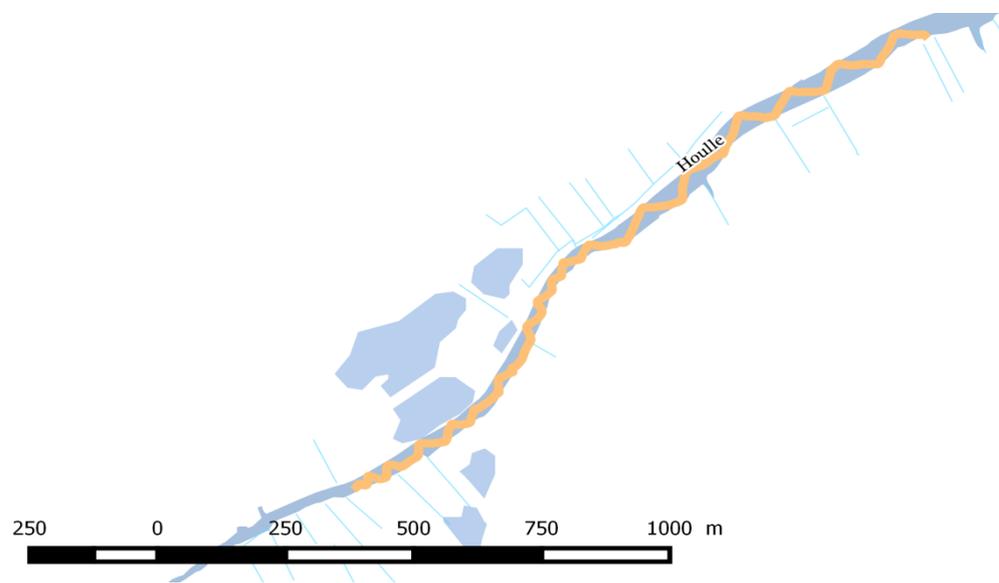


Figure 11 : Localisation et réseau hydraulique de la rivière de la « Houlle ».

Période d'échantillonnage

Code / nom du site	Date d'échantillonnage	Réplica terrain 1, 2 ou 3	Durée filtration	Espèces / groupes taxonomiques recherchés
Houille	18/09/2018	1	25m'22s"	PC/tous taxons
Serques	18/09/2018	1	32m'40s"	PC/tous taxons
Landsberg	18/09/2018	1	34m'21s"	PC/tous taxons
Romelaere1	19/09/2018	1	33m'39s"	PC/tous taxons
Romelaere2	19/09/2018	2	30m'21s"	PC/tous taxons
Romelaere3	19/09/2018	3	28m'04s"	PC/tous taxons
Moereleck	19/09/2018	1	32m'31s"	PC/tous taxons
Zieux	19/09/2018	1	30m'04s"	PC/tous taxons
Vesseliette	20/09/2018	1	30m'41s"	PC/tous taxons
Omer	20/09/2018	1	31m'48s"	PC/tous taxons
Grand Large Sud	20/09/2018	1	34m'12s"	PC/tous taxons
Canal1	21/09/2018	1	32m'30s"	PC/tous taxons
Canal2	21/09/2018	1	30m'47s"	PC/tous taxons

Tableau 1 : Période de prélèvement et rappel des stations.

La période pressentie pour la réalisation des prélèvements d'ADNe a dû être étudiée en fonction de divers facteurs. En effet, afin de ne pas surestimer le nombre de séquences ADN de certaines espèces communes comme les cyprinidés, leur période de fraie se doit d'être évitée. Le complexe de l'Audomarois étant majoritairement en seconde catégorie piscicole, le choix s'est porté sur le mois de septembre.

Les prélèvements ont donc été réalisés en 4 jours à l'aide de deux opérateurs sans réels problèmes techniques majeurs.

Une fois l'échantillonnage terminé, les cartouches sont envoyées au laboratoire SpyGen pour analyse génétique. Le délai de traitement est d'environ 3 mois.

télescopique sur une bacôve traditionnelle (station « Romelaëre1 »).



Résultats

Prérequis

Lors de l'analyse des résultats, certaines remarques (émises par le laboratoire SpyGen pour la plupart) sont à garder à l'esprit. En effet il convient de :

- Ne pas omettre la possibilité d'une éventuelle pollution génétique dans le cas de résultats aberrants par exemple.
- Certains taxons ne peuvent actuellement qu'être décrits au niveau du genre (par exemple : *Lampetra sp.*) ou de la Famille à l'aide de l'étude de l'ADNe. Ceux-ci sont listés ci-dessous.
- L'ADN possède une durée de vie dans le milieu aqueux d'environ 15 jours (en fonction de divers facteurs ; espèces, UV, T°...).

Tableau 2 : Liste des taxons uniquement identifiable au Genre ou à la Famille à l'heure actuelle.

Certains taxons sont identifiés au genre ou à la famille :
Carassius sp. : <i>Carassius auratus</i> , <i>Carassius carassius</i> ou <i>Carassius gibelio</i>
Cottus sp. : <i>Cottus aturi</i> , <i>Cottus duranii</i> , <i>Cottus gobio</i> , <i>Cottus hispaniolensis</i> , <i>Cottus perifretum</i> ou <i>Cottus petiti</i>
Cyprinidae - Complexe 2 : <i>Ctenopharyngodon idella</i> ou <i>Hypophthalmichthys molitrix</i>
Gobio sp. : <i>Gobio gobio</i> , <i>Gobio lozanoi</i> ou <i>Gobio occitaniae</i>
Lampetra sp. : <i>Lampetra fluviatilis</i> ou <i>Lampetra planeri</i>
Leuciscus sp. : <i>Leuciscus idus</i> ou <i>Leuciscus leuciscus</i>

Dans la suite de l'analyse, sur chaque station, un nombre de répliques et de séquences sont identifiés. Les répliques sont au nombre de 12 afin de garantir une certitude quant à la présence d'une espèce. Le nombre de répliques positif (exemple 6/12) correspond au nombre de répliques différents où la présence de l'espèce a été effectivement validée au-delà d'un seuil significatif. Le nombre de séquences quant à lui représente le nombre de séquences ADN correspondant aux amorces utilisées qui ont pu être retrouvées dans l'échantillon. Ces deux indicateurs peuvent nous renseigner sur l'aspect semi-quantitatif de la présence d'un taxon.

On rappelle que les résultats de l'analyse du compartiment ichtyologique ont été obtenus avec l'approche multi-spécifique (VigiDNA® M). En plus de cela, une analyse mono-spécifique (VigiDNA® S) a été réalisée sur l'Ecrevisse de Louisiane (*Procambarus clarkii*).

Résultats de l'approche mono-spécifique sur l'écrevisse de Louisiane (*Procambarus clarkii*)

L'intégralité des 13 stations au sein du marais Audomarois présente des résultats négatifs quant à la détection d'ADN d'Ecrevisse de Louisiane (*Procambarus clarkii*).

Vue d'ensemble de l'approche multi-spécifiques sur le compartiment ichtyologique

Diversité : 29 taxons		
Nom vernaculaire	Code taxon	Nom scientifique
Brème commune	BRE	<i>Abramis brama</i>
Ablette	ABL	<i>Alburnus alburnus</i>
Anguille	ANG	<i>Anguilla anguilla</i>
Brème bordelière	BRB	<i>Blicca bjoerkna</i>
Carassin	CAS	<i>Carassius sp.</i>
Loche de rivière	LOR	<i>Cobitis taenia</i>
Chabot	CHA	<i>Cottus sp.</i>
Amour blanc/Carpe argentée	CTI	<i>Cyprinidae - Complexe 2</i>
Carpe commune	CCO	<i>Cyprinus carpio</i>
Brochet	BRO	<i>Esox lucius</i>
Epinuche	EPI	<i>Gasterosteus aculeatus</i>
Goujon	GOU	<i>Gobio sp.</i>
Grémille	GRE	<i>Gymnocephalus cernuus</i>
Lamproie	LPR/LPP	<i>Lampetra sp.</i>
Able de Heckel	ABH	<i>Leucaspis delineatus</i>
Ide mélanote ou Vandoise	IDE/VAN	<i>Leuciscus sp.</i>
Gobie à taches noires	GTN	<i>Neogobius melanostomus</i>
Truite arc-en-ciel	TAC	<i>Oncorhynchus mykiss</i>
Perche fluviatile	PER	<i>Perca fluviatilis</i>
Flet	FLE	<i>Platichthys flesus</i>
Bouvière	BOU	<i>Rhodeus amarus</i>
Gardon	GAR	<i>Rutilus rutilus</i>
Saumon atlantique	SAT	<i>Salmo salar*</i>
Truite Fario	TRF	<i>Salmo trutta fario</i>
Ombre commun	OBR	<i>Thymallus thymallus</i>
Sandre	SAN	<i>Sander lucioperca</i>
Rotengle	ROT	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>
Silure	SIL	<i>Silurus glanis</i>
Tanche	TAN	<i>Tinca tinca</i>

Tableau 3 : Liste d'espèces détectées dans l'audomarois. * « pollution génétique » probable

L'ensemble des stations ont présenté des résultats positifs quant à la détection d'ADN de plusieurs espèces de poissons. Nous avons ainsi pu détecter au total 29 taxons différents dans l'ensemble du marais Audomarois (tableau3) à l'aide de la technique de l'ADNe.

Lorsqu'on analyse les résultats obtenus dans leur ensemble, il est possible de mettre en évidence quelques tendances (tableau 4). La richesse spécifique moyenne retrouvée sur ces

13 stations est de 15 taxons avec 12 espèces détectées au minimum (Serques) et 20 au maximum (Canal 2). L'écart-type est plutôt faible (± 2).

A l'aide des deux indicateurs que sont le nombre de séquences de gènes et de réplicats positifs, il est possible d'avoir une idée de la proportion (semi-quantitative) des diverses espèces détectées par rapport aux autres.

Les 5 espèces les plus communément retrouvées dans le marais sont ; la Brème commune (*Abramis brama*), le Gardon (*Rutilus rutilus*), la Grémille (*Gymnocephalus cernuus*), la Perche fluviatile (*Perca fluviatilis*) et le Rotengle (*Scardinius erythrophthalmus*).

Diversité totale détectée :	29	
Richesse moyenne	15	
Richesse minimum par station	12 (Serques)	
Richesse maximum par station	20 (Canal2)	
Taxons les plus représentées (occurrence/séquences totales)	BRE (13/1989625)	GAR (13/715215)
Taxons les moins représentées (occurrence/séquences totales)	EPI (1/136)	SIL (1/136)
Espèces patrimoniales dénombrées	10	
Espèces exotiques dénombrées	6	
Espèces patrimoniales détectées	ANG, LOR, CHA, BRO, LPR/LPP, ABH, BOU, TRF, OBR, VAN, IDE,	

Tableau 4 : Tendances globales obtenue à l'aide de l'ADNe.

En revanche, les 5 espèces les moins représentées en terme d'occurrence par station et de séquences ADN retrouvées sont ; l'Epinouche (*Gasterosteus aculeatus*), le Silure glane (*Silurus glanis*), la Lamproie (*Lampetra* sp.), le Gobie à taches noires (*Neogobius melanostomus*) et le Flet (*Platichthys flesus*).

Plusieurs espèces ont été détectées sur l'ensemble des stations du marais. Il s'agit de la

Brème commune, l'Anguille, la Carpe commune, le Brochet, la Grémille, la Perche fluviatile, le Gardon, le Sandre, le Rotengle et la Tanche. Cela représente 10 taxons toujours détectés mais bien-entendus avec des disparités inter-stations qui seront traitées dans la partie résultats par station (en termes de nombres de réplicats positifs ou de séquences).

Espèces patrimoniales

10 espèces dites patrimoniales sont retrouvées. Une espèce patrimoniale correspond à une espèce protégée, menacée (sur liste rouge), rare ou encore une espèce ayant un intérêt scientifique, symbolique ou culturel régional. On rappelle que le statut d'espèce patrimoniale est un bon indicateur de la richesse d'un territoire. Certains taxons appartiennent à la liste régionale des espèces déterminantes de ZNIEFF (DREAL NPDC, 2014).

Dans notre cas, ces 8 espèces patrimoniales détectées sont :

Nom scientifique	Nom vernaculaire	Statuts UICN
<i>Anguilla anguilla</i>	Anguille	CR
<i>Cobitis taenia</i>	Loche de rivière	NT ; Annexe II DHFF
<i>Esox lucius</i>	Brochet	VU
<i>Cottus sp.</i>	Chabot	LC ; Annexe II DHFF
<i>Lampetra sp</i>	Lamproie	VU
<i>Leucaspis delineatus</i>	Able de Heckel	LC
<i>Rhodeus amarus</i>	Bouvière	LC ; Annexe II DHFF
<i>Salmo trutta</i>	Truite Fario	LC

Tableau 5 : Listes des espèces patrimoniales détecté sur le marais et leurs statuts IUCN

Légende : EX : Disparue – CR : Danger critique d'extinction – EN : En danger – VU : Vulnérable – NT : Quasi menacée – LC : Préoccupation mineure. Annexe II DHFF : retrouvées en Annexe II de la Directive Cadre Habitats Faune Flore. Leur présence sur certaines stations est donc une information prépondérante.

Espèces exotiques

Une espèce exotique est une espèce allochtone introduite par l'Homme (volontairement ou de façon fortuite). Celle-ci peut également être qualifiée d'envahissante (EEE) si celle-ci a une tendance à se propager de manière exponentielle et donc de prédominer dans les écosystèmes, les habitats au détriment des espèces indigènes avec des conséquences écologiques, économiques et/ou sanitaires négatives (UICN 2000, McNeeky et al.2001). Ces espèces peuvent aussi bien être végétales qu'animales. Dans la région des Hauts-de-

France, certaines espèces sont plus problématiques que d'autres. Une liste des espèces exotiques a par exemple été produite en tenant compte de leurs impacts environnementaux (tableau 6).

Dans le cas du marais Audomarois, l'ADNe a pu mettre en évidence la présence avérée de 6 espèces exotiques dont une espèce exotique envahissante (EEE) : le Gobie à taches noires sur les deux stations situées sur l'axe canalisé (figure13).

NB : une espèce exotique introduite avant le 18^e siècle n'est plus considérée comme telle mais dite amphinaturalisée (ex : la Carpe commune).



Figure 13 : Photos prises sur le secteur de l'Audomarois d'un Amour blanc (sur le Romelaëre), d'un Silure glane (sur le Zieux) et d'un Gobie à taches noires (sur le Canal) respectivement de gauche à droite (crédit photos : Eden62, E. Bayard et données pêcheurs).

- **Cyprinidae - Complexe 2 sur le Romealaëre (1, 2 et 3)** : dans ce cas l'ADNe ne nous permet pas de faire la distinction entre l'Amour blanc (*Ctenopharyngodon idella*) et la Carpe argentée (*Hypophthalmichthys molitrix*). Mais des données récoltées sur le terrain par Eden62 nous ont permis de valider l'espèce qui se trouve être l'Amour blanc (figure13). Ce poisson est un *Cyprinidae* herbivore vorace originaire d'Asie. Il est parfois implanté par certains propriétaires de plans d'eau afin d'engager une lutte contre l'expansion des hydrophytes. La Carpe argentée (*Hypophthalmichthys molitrix*), quant à elle, est exclusivement filtreuse d'algues et non brouteuse d'hydrophytes.
- **Gobie à taches noires sur le Canal (1 et 2)** : cette espèce est originaire du bassin Ponto-Caspéen. Son aire de répartition a pu s'étendre dès les années 1990. Ce petit poisson très vorace et fertile est remonté via les canaux de navigation et les ballastes des péniches en transit. D'abord signalé sur le bassin du Danube puis du Rhin via le canal Rhin-Main-Danube, il a été signalé à plusieurs reprises par des pêcheurs du Nord (59) depuis 2016 et du Pas-de-Calais (62) sur les axes canalisés en 2018.
- **Le Silure sur le Zieux** : Espèce introduite historiquement sur le secteur du Rhin vers 1850, le Silure a été introduit et a proliféré dans diverses rivières de l'hexagone (Keith et. Al 1992, Keith 2003). Son introduction a été facilitée par son intérêt halieutique fort. Le silure est un carnivore nocturne de grande taille. Son impact sur le milieu varie en fonction de sa typologie. Son arrivée sur le secteur de l'audomarois a ainsi été validé en 2018 par la détection de son ADN et par des photos et déclarations de pêcheurs sur l'axe canalisé et sur le Zieux.

- **La Truite arc-en-ciel** : Cette truite originaire des Etats-Unis est principalement introduite dans le milieu via des déversements de rempoissonnement par des associations de pêcheurs pour son intérêt halieutique. La souche étant triploïde, ce poisson ne peut se reproduire dans le milieu, mais il peut néanmoins conduire à une certaine compétition alimentaire avec d'autres espèces.
- **Le Sandre** : Prédateur piscivore originaire de l'est de l'Elbe et du Nord de la mer Baltique et en particulier du bassin du Danube. Le Sandre fut introduit historiquement sur le Rhin en 1888 puis sur l'ensemble du territoire national pour son intérêt halieutique.
- **L'Ide mélanote (ou la Vandoise)** : Encore une fois l'ADNe ne permet pas de faire le distinguo entre l'ADN de la Vandoise (*Leuciscus leuciscus*) et celui de l'Ide mélanote (*Leuciscus idus*). Nous ne pouvons trancher cette fois à l'aide des observations terrain car les deux espèces ont déjà été retrouvées dans l'audomarois (données pêcheurs). L'Ide est un poisson originaire d'Asie et relativement peu répandu sur le territoire. Il ne présente pas de réelle menace environnementale. La Vandoise quant à elle présente un corps plus fusiforme.

		Impact environnemental		
		C (Faible)	B (Moyen)	A (Fort)
Niveaux d'invasions	3		Sandre (<i>Sander lucioperca</i> (Linnaeus, 1758))	Pseudorasbora (<i>Pseudorasbora parva</i> (Temminck & Schlegel, 1846)) Silure glane (<i>Silurus glanis</i> Linnaeus, 1758) Moule zébrée (<i>Dreissena polymorpha</i> (Pallas, 1771)) Ecrevisse américaine (<i>Orconectes limosus</i> (Rafinesque, 1817))
	2			Carassin argenté (<i>Carassius gibelio</i> (Bloch, 1782)) Carassin doré (<i>Carassius auratus</i> (Linnaeus, 1758)) Perche soleil (<i>Lepomis gibbosus</i> (Linnaeus, 1758)) Ecrevisse de Californie (<i>Pacifastacus leniusculus</i> (Dana, 1852))
	1	Gambusie (<i>Gambusia affinis</i> (Baird & Girard, 1853)) Gambusie (<i>Gambusia holbrooki</i> Girard, 1859) Omble de fontaine (<i>Salvelinus fontinalis</i> (Mitchill, 1814)) Truite arc-en-ciel (<i>Oncorhynchus mykiss</i> (Walbaum, 1792))	Achigan à grande bouche (<i>Micropterus salmoides</i>) Barbotte brune (<i>Ameiurus nebulosus</i> (Lesueur, 1819)) Carpe argentée (<i>Hypophthalmichthys molitrix</i> (Valenciennes, 1844)) Poisson chat (<i>Ameiurus melas</i> (Rafinesque, 1820)) Crabe chinois (<i>Eriocheir sinensis</i> H. Milne-Edwards, 1853)	Amour blanc (<i>Ctenopharyngodon idella</i> (Valenciennes, 1844)) Ecrevisse de Louisiane (<i>Procambarus clarkii</i> (Girard, 1852))
	0	Umbre pygmée (<i>Umbra pygmaea</i> (DeKay, 1842))	Tête de boule (<i>Pimephales promelas</i> Rafinesque, 1820)	Gobie à nez tubulaire (<i>Proterorhinus semilunaris</i> (Heckel, 1837)) Gobie à tâches noires (<i>Neogobius melanostomus</i> (Pallas, 1814))

Liste noire
Liste à surveiller
Liste d'alerte

Tableau 6 : Impact environnemental et hiérarchisation des « niveaux d'invasions » (DREAL Nord – Pas de Calais 2014)

Pollution génétique, espèces amphihalines et remarques

La présence de Saumon (*Salmo salar*) sur la Houlle découle vraisemblablement d'une pollution génétique. En effet la détection de certaines espèces notamment marines comme le maquereau, le saumon ou la daurade sont souvent des artefacts. Dans ce cas, aucune donnée de pêche de Saumon n'a jamais été notifiée sur la rivière de la Houlle. De plus la présence d'une STEP ainsi qu'un camping en amont de la Houlle confirme nos doutes. L'ADN retrouvé dans le milieu correspond probablement aux rejets des eaux usées.



Figure 14 : Un flet pêché sur la Basse Meldyck sur la commune de Blendecques (62)

En revanche une autre espèce marine est retrouvée sur les deux stations situées sur le Canal : il s'agit du Flet (*Platichthys flesus*). En effet, il est possible de retrouver cette espèce profondément dans les terres (dans le cas du fleuve Loire, des individus ont été recensés plus de 200 km en amont par exemple). Sa présence dans la zone d'étude a pu nous être confirmée à l'aide de données pêcheurs (figure 14). D'autres espèces amphihalines comme les Lamproies (*Lampetra* sp.), l'Anguille (*Anguilla anguilla*) ou

l'écotype Truite de Mer (*Salmo trutta trutta*) peuvent également être retrouvées.

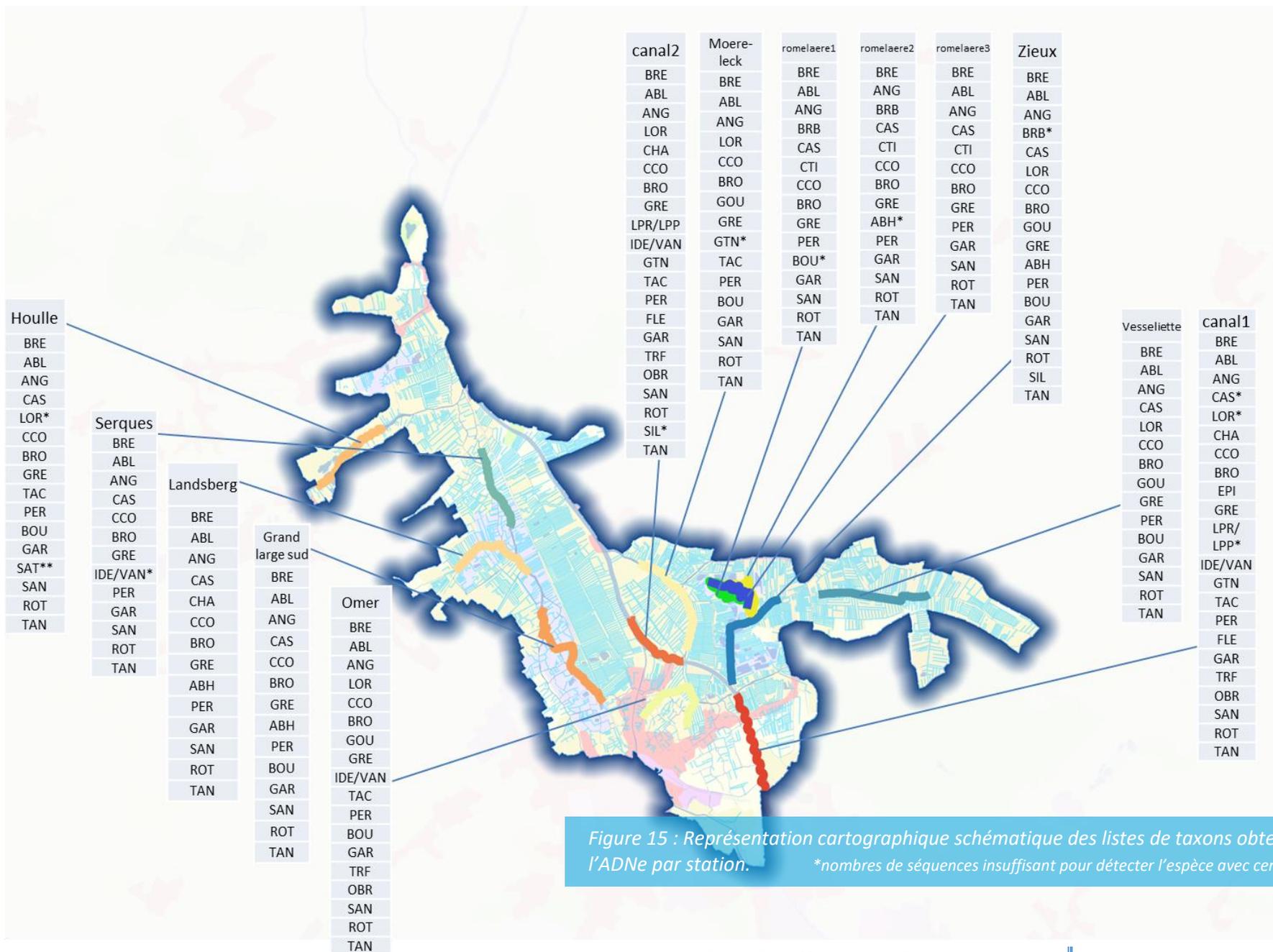


Figure 15 : Représentation cartographique schématique des listes de taxons obtenues à l'aide de l'ADNe par station. *nombres de séquences insuffisant pour détecter l'espèce avec certitude.

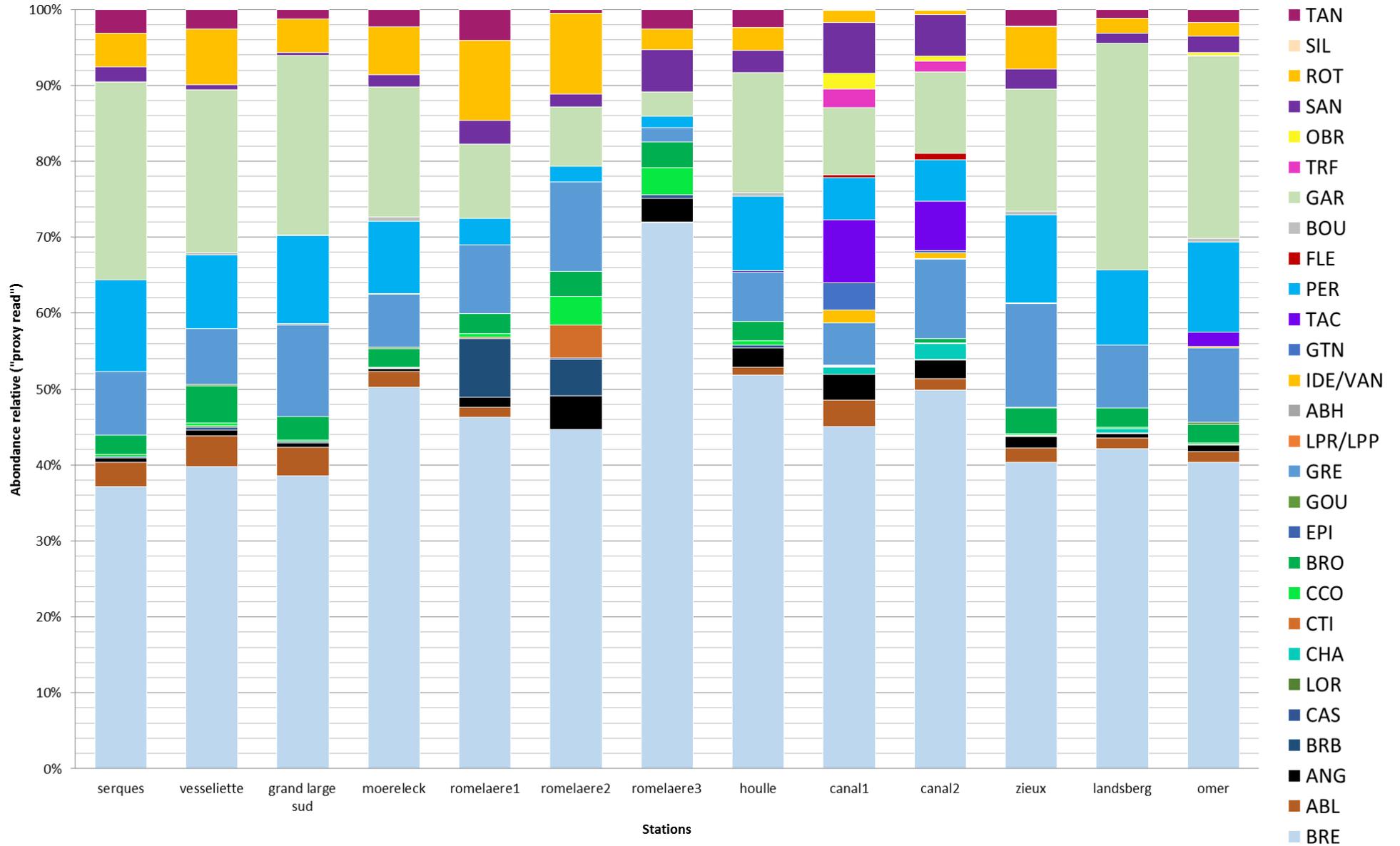


Figure 16 : Pourcentages d'abondances relatives obtenues à l'aide des « reads » (nombre de séquences ADN détectées par taxons).

			Serques	Vesseliette	Grand Large sud	Moereleck	Roemelaere 1	Romelaere 2	Romelaere 3	Houille	Canal 1	Canal 2	Zieux	Landsberg	Omer	
Nom scientifique	Nom vernaculaire	Code taxon	Occurrence													
<i>Abramis brama</i>	Brème commune	BRE	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté
<i>Alburnus alburnus</i>	Ablette	ABL	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté
<i>Anguilla anguilla</i>	Anguille	ANG	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté
<i>Blicca bjoerkna</i>	Brème bordelière	BRB					Déecté	Déecté					*			
<i>Carassius sp.</i>	Carrasin	CAS	Déecté	Déecté	Déecté		Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	*			Déecté	Déecté	
<i>Cobitis taenia</i>	Loche de rivière	LOR		Déecté		Déecté					*	*	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté
<i>Cottus sp.</i>	Chabot	CHA									Déecté	Déecté			Déecté	
<i>Cyprinidae - Complexe 2</i>	Amour blanc	CTI					Déecté	Déecté	Déecté							
<i>Cyprinus carpio</i>	Carpe commune	CCO	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté
<i>Esox lucius</i>	Brochet	BRO	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté
<i>Gasterosteus aculeatus</i>	Epinoche	EPI									Déecté					
<i>Gobio sp.</i>	Goujon	GOU		Déecté		Déecté								Déecté		Déecté
<i>Gymnocephalus cernuus</i>	Gremille	GRE	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté
<i>Lampetra sp.</i>	Lamproie	LPR/LPP									*	Déecté				
<i>Leucaspis delineatus</i>	Able de Heckel	ABH			Déecté			*						Déecté	Déecté	
<i>Leuciscus sp.</i>	Ide Melanote ou Vandoise	IDE/VAN	*								Déecté	Déecté				Déecté
<i>Neogobius melanostomus</i>	Gobie à taches noires	GTN				*					Déecté	Déecté				
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Truite arc-en-ciel	TAC				Déecté				Déecté	Déecté	Déecté				Déecté
<i>Perca fluviatilis</i>	Perche fluviatile	PER	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté
<i>Platichthys flesus</i>	Flet	FLE									Déecté	Déecté				
<i>Rhodeus amarus</i>	Bouvière	BOU		Déecté	Déecté	Déecté	*			Déecté				Déecté		Déecté
<i>Rutilus rutilus</i>	Gardon	GAR	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté
<i>Salmo salar</i>	Saumon	SAT								Déecté						
<i>Salmo trutta</i>	Truite Fario	TRF									Déecté	Déecté				Déecté
<i>Thymallus thymallus</i>	Ombre commun	OBR									Déecté	Déecté				Déecté
<i>Sander lucioperca</i>	Sandre	SAN	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté
<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	Rotengle	ROT	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté
<i>Silurus glanis</i>	Silure	SIL										*	Déecté			
<i>Tinca tinca</i>	Tanche	TAN	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté	Déecté
			12	15	14	15	14	13	13	15	19	20	17	14	18	

* : Quantité d'ADN insuffisante pour certifier la détection du taxon dans l'échantillon.

Tableau 7 : Récapitulatif des taxons déctés par station.



Diversité	12
Taxon le plus représenté (réplicats positifs/nbre de séquences)	Brème commune (12/128 829)
Taxon le moins représenté (réplicats positifs/nbre de séquences)	Carassin (2/456)
Espèces d'intérêt patrimoniales	ANG, BRO

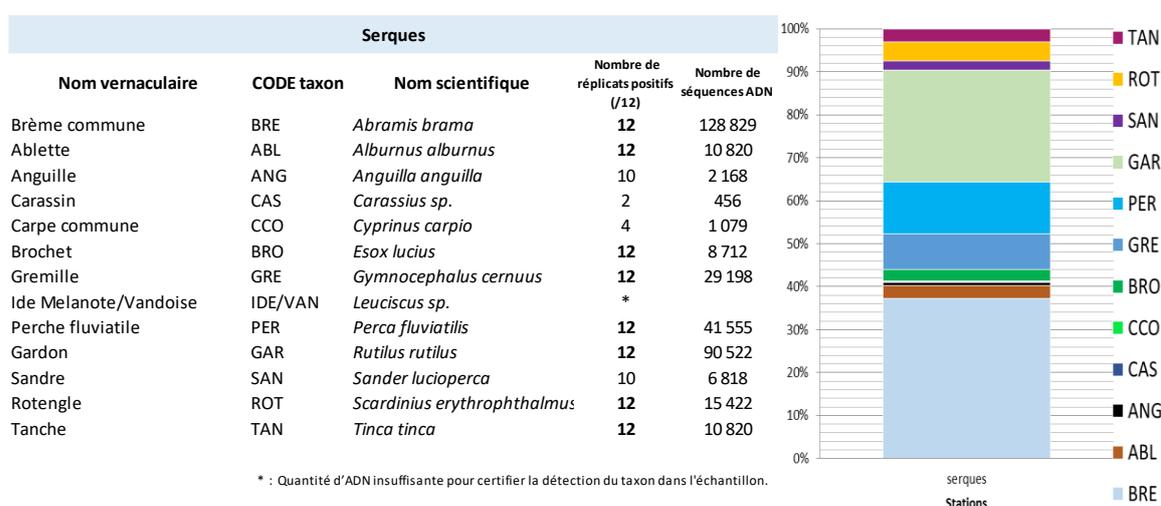


Tableau 8 : Résultats des analyses ADNe de la station Serques et abondances relatives associées

12 espèces de poissons ont été détectées sur la station du Marais de Serques. Il s'agit de la plus faible diversité spécifique obtenue sur l'ensemble des stations du Marais Audomarois. En termes de nombre de séquences d'ADN, les 3 espèces majoritaires sont la Brème

commune, le Gardon et la Perche fluviatile. Ces 3 taxons sont parmi les plus communs du secteur. On note néanmoins une nette prédominance du nombre de séquences ADN du Gardon.

	Diversité	15
	Taxon le plus représenté (réplicats positifs/nbre de séquences)	Brème commune (12/144 391)
	Taxon le moins représenté (réplicats positifs/nbre de séquences)	Goujon (7/665)
	Espèces d'intérêt patrimoniales	ANG, LOR, BRO, BOU

Vesseliette				
Nom vernaculaire	CODE taxon	Nom scientifique	Nombre de répliquats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN
Brème commune	BRE	<i>Abramis brama</i>	12	144 391
Ablette	ABL	<i>Alburnus alburnus</i>	12	14 796
Anguille	ANG	<i>Anguilla anguilla</i>	11	2 884
Carassin	CAS	<i>Carassius sp.</i>	9	1 185
Loche de rivière	LOR	<i>Cobitis taenia</i>	9	897
Carpe commune	CCO	<i>Cyprinus carpio</i>	10	1 193
Brochet	BRO	<i>Esox lucius</i>	12	17 652
Goujon	GOU	<i>Gobio sp.</i>	7	665
Gremille	GRE	<i>Gymnocephalus cernuus</i>	12	26 808
Perche fluviatile	PER	<i>Perca fluviatilis</i>	12	35 124
Bouvière	BOU	<i>Rhodeus amarus</i>	10	1 221
Gardon	GAR	<i>Rutilus rutilus</i>	12	77 988
Sandre	SAN	<i>Sander lucioperca</i>	12	2 384
Rotengle	ROT	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	12	26 644
Tanche	TAN	<i>Tinca tinca</i>	12	9 348

Tableau 9 : Résultats des analyses ADNe sur la station Vesseliette et abondances relatives associées

15 taxons sont détectés sur cette station ce qui équivaut à la diversité moyenne du Marais. Les 3 espèces majoritairement trouvées dans cette zone sont encore une fois la Brème commune, la Perche et le Gardon. Néanmoins cette station est très intéressante pour plusieurs raisons. On trouve en plus du Brochet et de l'Anguille (détectés sur toutes les stations), la Loche de rivière et la Bouvière, espèces patrimoniales et listées en annexe II de la Directive Habitats Faune Flore. Le Goujon a aussi été détecté. Ce taxon rhéophile est particulièrement polluosensible, ce qui

témoigne d'une certaine qualité chimique de l'eau. L'information de sa présence sur la Vesseliette est un bon indicateur. Néanmoins, au regard du nombre modéré de séquences ADN et de 7/12 répliquats, il est probable que le Goujon était tout de même peu représenté sur la station. On note par contre que les séquences ADN : d'Ablette, de Loche de rivière et de Brochet sont plus élevées par rapport à l'ensemble des 13 stations. Cette donnée nous permettra d'orienter certaines de nos investigations sur ce secteur, concernant le Focus Brochet.

Le grand large sud



Diversité	14
Taxon le plus représenté (réplicats positifs/nbre de séquences)	Brème commune (12/136 076)
Taxon le moins représenté (réplicats positifs/nbre de séquences)	Bouvière (2/422)
Espèces d'intérêt patrimoniales	ANG, BRO, ABH, BOU

Grand large sud							
Nom vernaculaire	CODE taxon	Nom scientifique	Nombre de réplicats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN			
Brème commune	BRE	<i>Abramis brama</i>	12	136 076			
Ablette	ABL	<i>Alburnus alburnus</i>	12	13 559			
Anguille	ANG	<i>Anguilla anguilla</i>	9	1 909			
Carassin	CAS	<i>Carassius sp.</i>	9	578			
Carpe commune	CCO	<i>Cyprinus carpio</i>	6	778			
Brochet	BRO	<i>Esox lucius</i>	12	11 016			
Gremille	GRE	<i>Gymnocephalus cernuus</i>	12	42 593			
Able de Heckel	ABH	<i>Leucaspis delineatus</i>	3	650			
Perche fluviatile	PER	<i>Perca fluviatilis</i>	12	40 663			
Bouvière	BOU	<i>Rhodeus amarus</i>	2	422			
Gardon	GAR	<i>Rutilus rutilus</i>	12	83 513			
Sandre	SAN	<i>Sander lucioperca</i>	9	1 472			
Rotengle	ROT	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	12	15 553			
Tanche	TAN	<i>Tinca tinca</i>	12	4 421			

Tableau 10 : Résultats des analyses ADNe sur la station Grand Large sud et abondances relatives associées

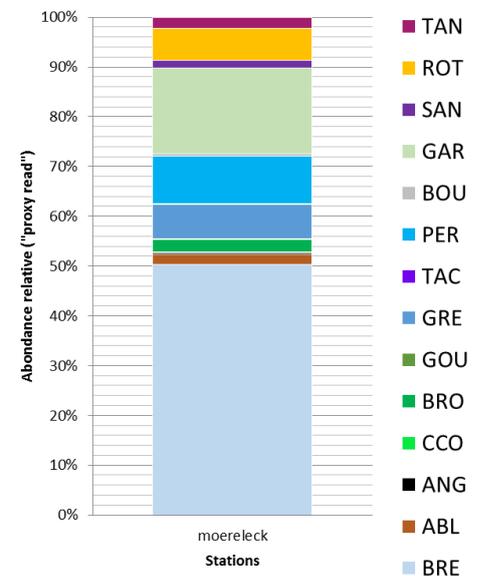
La diversité sur la partie Sud du secteur du Grand Large et plus précisément sur les wateringues dit du Grand Large et du Ketestroom est de 14 taxons. Les 3 espèces majoritaires sont la Brème commune, le Gardon et la Grémille. Les espèces d'intérêt patrimonial sont au nombre de 5 avec la Bouvière listée en Annexe II de la DHFF. La bouvière n'est malgré tout détectée que sur deux réplicats avec 422 séquences, ce qui est assez faible. On note aussi la présence de l'Able

de Heckel sur cette station (uniquement détecté sur 2 autres stations (Zieux et Landsberg) mais le nombre de séquences est ici le plus important. Le Brochet semble aussi plus représenté sur cette zone. Il devance fortement le Sandre en termes de nombre de séquences. En effet, le nombre de séquences ADN de Sandre est le plus faible par rapport aux autres stations. L'Anguille semble aussi assez peu représentée.



Diversité	15
Taxon le plus représenté (réplicats positifs/nbre de séquences)	Brème commune (12/199 660)
Taxon le moins représenté (réplicats positifs/nbre de séquences)	Loche de rivière (3/131)
Espèces d'intérêt patrimoniales	
ANG, BRO, LOR, BOU	

Moereleck				
Nom vernaculaire	CODE taxon	Nom scientifique	Nombre de répliquats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN
Brème commune	BRE	<i>Abramis brama</i>	12	199 660
Ablette	ABL	<i>Alburnus alburnus</i>	12	8 139
Anguille	ANG	<i>Anguilla anguilla</i>	11	1 674
Loche de rivière	LOR	<i>Cobitis taenia</i>	3	131
Carpe commune	CCO	<i>Cyprinus carpio</i>	5	352
Brochet	BRO	<i>Esox lucius</i>	12	9 669
Goujon	GOU	<i>Gobio sp.</i>	9	837
Gremille	GRE	<i>Gymnocephalus cernuus</i>	12	27 587
Gobie à taches noires	GTN	<i>Neogobius melanostomus</i>	*	
Truite arc-en-ciel	TAC	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	2	698
Perche fluviatile	PER	<i>Perca fluviatilis</i>	12	37 643
Bouvière	BOU	<i>Rhodeus amarus</i>	10	2 134
Gardon	GAR	<i>Rutilus rutilus</i>	12	68 118
Sandre	SAN	<i>Sander lucioperca</i>	12	6 295
Rotengle	ROT	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	12	25 209
Tanche	TAN	<i>Tinca tinca</i>	12	9 139



* : Quantité d'ADN insuffisante pour certifier la détection du taxon dans l'échantillon.

Tableau 11 : Résultats des analyses ADNe sur la station Moereleck et abondances relatives associées

La diversité spécifique de la station du Moereleck reste dans la moyenne avec 15 taxons. Plusieurs espèces d'intérêt patrimonial y sont détectées dont la Loche de rivière et la

Bouvière. La Loche est assez peu représentée en termes de nombre de séquences mais la Bouvière semble plus implantée.

On note toutefois la présence d'ADN de Truite arc-en-ciel. Trois hypothèses sont vraisemblables pour expliquer sa présence :

1. L'ADN est issu d'eau de rejets domestiques (un certain nombre de maisons non raccordées à un système d'assainissement collectif sont recensées dans cette zone).
2. Un certain nombre de Truites arc-en-ciel ont pu trouver refuge dans ce wateringue. En effet, cette rivière est connectée au Nord et au Sud au Canal à grand gabarit. Les connexions étant relativement proches, il est possible que des individus du Canal aient pu remonter dans ce wateringue (grand nombre de séquences de TAC retrouvées sur Canal 1 et 2). En effet, des

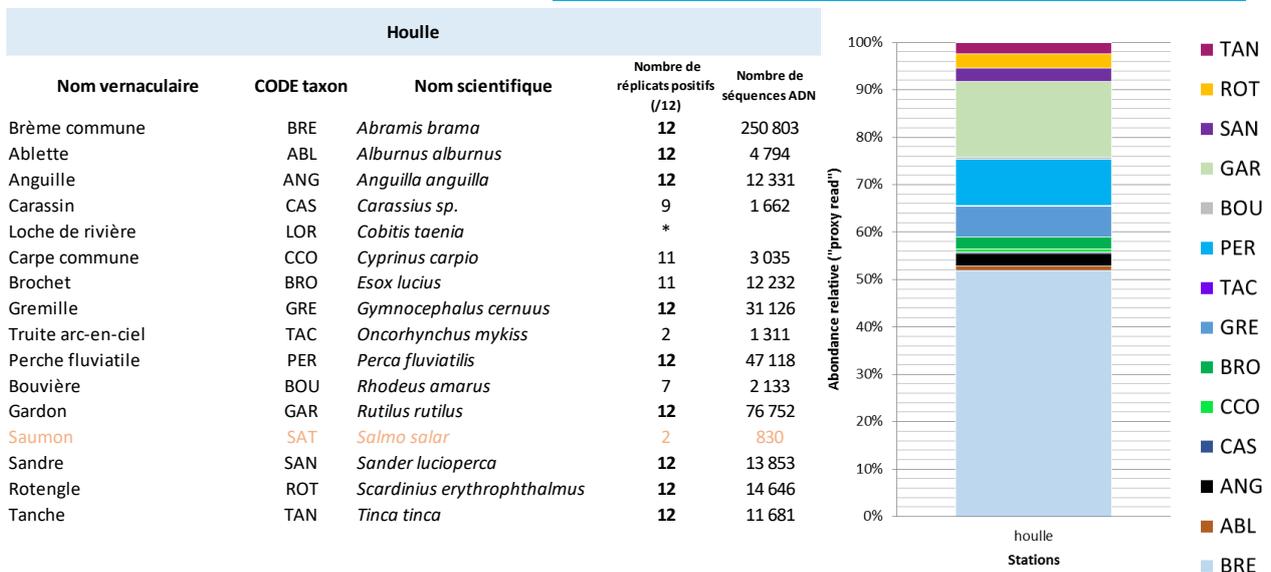
rempoissonnements de Truites arc-en-ciel sont parfois réalisés par l'AAPPMA locale de Arques. Certains sujets sont tout à fait susceptibles d'être retrouvés dans le canal ou sur cette rivière.

3. L'ADN est directement issu de l'eau du Canal qui peut transiter en partie dans ce wateringue. Des individus ne sont pas forcément présents dans le Moereleck mais leur ADN si.

Quant à la détection non significative d'ADN de Gobie à taches noires, une explication similaire est plausible (proximité du Canal).



Diversité	14
Taxon le plus représenté (réplicats positifs/nbre de séquences)	Brème commune (12/250803)
Taxon le moins représenté (réplicats positifs/nbre de séquences)	Truite arc-en-ciel (2/1311)
Espèces d'intérêt patrimoniales ANG, LOR, BRO, BOU	



* : Quantité d'ADN insuffisante pour certifier la détection du taxon dans l'échantillon.

Tableau 12 : Résultats des analyses ADNe sur la station Houle et abondances relatives associées

14 taxons sont détectés sur la Houle avec une détection non significative de la Loche de rivière et une pollution génétique avec la présence d'ADN de Saumon atlantique, vraisemblablement issu des eaux traitées de la STEP située en amont (taxon non comptabilisé). Mis à part la détection d'ADN de Truite arc-en-ciel, la liste faunistique est caractéristique d'un cours d'eau de seconde catégorie bien diversifié avec la détection d'espèces cibles telles que la Bouvière et la Loche de rivière.

La présence de séquences ADN de Truite arc-en-ciel peut être imputée à plusieurs facteurs à l'instar de la station Moereleck (rejet de la STEP, arrivée d'ADN par les eaux du canal ou individus issus du canal). On note aussi une légère dominance du ratio séquence ADN Brochet/Sandre en faveur du Sandre (à l'inverse de Grand Large Sud).

La station Canal1



Diversité		19
Taxon le plus représenté (réplicats positifs/nbre de séquences)		Brème commune (12/86689)
Taxon le moins représenté (réplicats positifs/nbre de séquences)		Carpe commune (4/125)
Espèces d'intérêt patrimoniales		ANG, CHA, BRO, TRF

Canal1				
Nom vernaculaire	CODE taxon	Nom scientifique	Nombre de répliquats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN
Brème commune	BRE	<i>Abramis brama</i>	12	86 689
Ablette	ABL	<i>Alburnus alburnus</i>	11	6 737
Anguille	ANG	<i>Anguilla anguilla</i>	12	6 426
Carassin	CAS	<i>Carassius sp.</i>	*	
Loche de rivière	LOR	<i>Cobitis taenia</i>	*	
Chabot	CHA	<i>Cottus sp.</i>	5	1 842
Carpe commune	CCO	<i>Cyprinus carpio</i>	4	125
Brochet	BRO	<i>Esox lucius</i>	1	285
Epinoche	EPI	<i>Gasterosteus aculeatus</i>	4	132
Gremille	GRE	<i>Gymnocephalus cernuus</i>	12	10 724
Lamproie	LPR/LPP	<i>Lampetra sp.</i>	*	
Ide Melanote/Vandoise	IDE/VAN	<i>Leuciscus sp.</i>	9	3 241
Gobie à taches noires	GTN	<i>Neogobius melanostomus</i>	10	6 943
Truite arc-en-ciel	TAC	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	12	15 827
Perche fluviatile	PER	<i>Perca fluviatilis</i>	9	10 788
Flet	FLE	<i>Platichthys flesus</i>	1	683
Gardon	GAR	<i>Rutilus rutilus</i>	12	16 968
Truite Fario	TRF	<i>Salmo trutta</i>	7	4 749
Ombre	OBR	<i>Thymallus thymallus</i>	2	4 050
Sandre	SAN	<i>Sander lucioperca</i>	12	12 899
Rotengle	ROT	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	10	3 019
Tanche	TAN	<i>Tinca tinca</i>	3	247

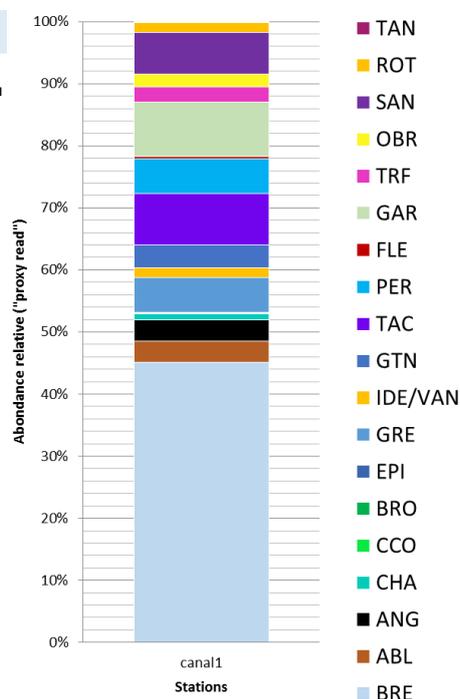


Tableau 13 : Résultats des analyses ADNe sur la station Canal1 et abondances relatives associées

La station Canal 1 est positionnée plus en amont d'1,5km environ que la station Canal 2. Mais les deux stations sont situées sur le même Bief, en aval de l'écluse des Flandres. L'objectif de ce positionnement était de mettre en évidence ou non des divergences entre les

deux stations, notamment à cause de la confluence avec la rivière de la Basse Meldyck située juste en aval de la station Canal1.

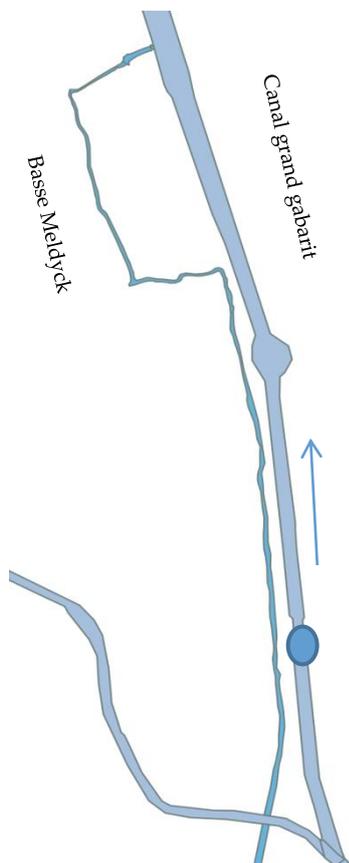
La diversité est de 19 détections de taxons.

Cette diversité très importante est liée à la présence de :

- L'Épinoche (uniquement détecté ici).
- Plusieurs espèces issues de la zone à Truite/Ombre (typologie de Huet) sont détectées comme : Chabot, Truite Fario, Truite arc-en-ciel et Ombre commun.
- Deux espèces amphihalines sont présentes (le Flet et la Lamproie mais non significatifs sur Canal 1).

Par rapport aux autres milieux échantillonnés, on note que les proportions de séquences ADN de Brochet et de Carpe commune sont les plus faibles. En revanche, les proportions de séquences ADN de Gobie à taches noires et d'Ombre commun sont ici plus élevées.

Ces résultats et cette diversité, plus importante que sur les autres stations, peuvent être expliqués d'une part à cause du caractère particulier du milieu (Canal grand gabarit) et d'autre part avec la proximité de l'exutoire de la Basse Meldyck (affluent de première catégorie administrative). En effet, le Canal reste un axe de migration de plusieurs espèces amphihalines, il est donc parfaitement cohérent de retrouver l'ADN d'espèces de ce type.



Enfin la proximité de l'exutoire de la Basse Meldyck (Figure17) peut expliquer la détection d'espèces de première catégorie piscicole. Si on garde à l'esprit que l'ADN se comporte dans les fluides comme une particule fine, celui-ci devrait en toute logique se retrouver en plus grande quantité à l'aval de l'embouchure Basse Meldyck/Canal à grand gabarit. En effet, le flux de gènes de ces espèces est transporté dans un système lotique et peut se retrouver à l'aval de la confluence dans le sens d'écoulement de l'eau.

De ce fait, il y a plus de séquences de ces espèces de première catégorie qui sont effectivement dénombrés sur Canal 2.

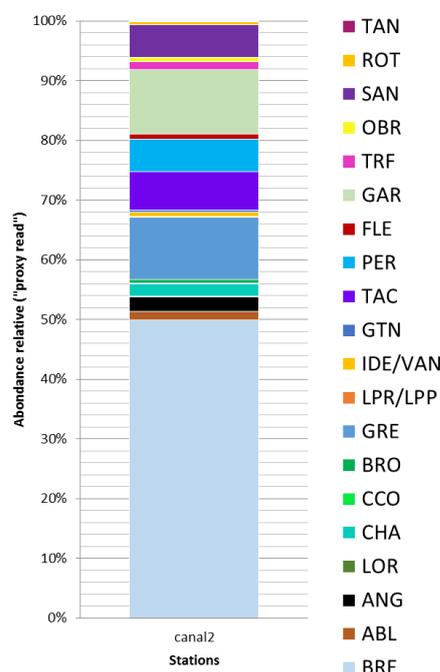
Sur Canal 1, ces taxons sont tout de même détectés mais en moindre abondance en termes de fragments de gènes.

Figure 17 : Schéma représentant le réseau hydrologique de la rivière Basse Meldyck et sa confluence au Canal. Le point bleu représente l'écluse des Flandres et la flèche le sens d'écoulement.



Diversité	20
Taxon le plus représenté (réplicats positifs/nbre de séquences)	Brème commune (12/241 305)
Taxon le moins représenté (réplicats positifs/nbre de séquences)	Lamproie (5/527)
Espèces d'intérêt patrimoniales ANG, LOR, CHA, BRO, FLE, TRF	

Canal2				
Nom vernaculaire	CODE taxon	Nom scientifique	Nombre de réplicats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN
Brème commune	BRE	<i>Abramis brama</i>	12	241 305
Ablette	ABL	<i>Alburnus alburnus</i>	12	7 121
Anguille	ANG	<i>Anguilla anguilla</i>	12	12 059
Loche de rivière	LOR	<i>Cobitis taenia</i>	2	554
Chabot	CHA	<i>Cottus sp.</i>	10	9 847
Carpe commune	CCO	<i>Cyprinus carpio</i>	8	638
Brochet	BRO	<i>Esox lucius</i>	7	2 548
Gremille	GRE	<i>Gymnocephalus cernuus</i>	12	50 490
Lamproie	LPR/LPP	<i>Lampetra sp.</i>	5	527
Ide Melanote/Vandoise	IDE/VAN	<i>Leuciscus sp.</i>	10	3 676
Gobie à taches noires	GTN	<i>Neogobius melanostomus</i>	1	1 584
Truite arc-en-ciel	TAC	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	12	31 234
Perche fluviatile	PER	<i>Perca fluviatilis</i>	12	26 314
Flet	FLE	<i>Platichthys flesus</i>	5	4 453
Gardon	GAR	<i>Rutilus rutilus</i>	12	51 792
Truite Fario	TRF	<i>Salmo trutta</i>	10	6 713
Ombre	OBR	<i>Thymallus thymallus</i>	6	3 311
Sandre	SAN	<i>Sander lucioperca</i>	12	26 374
Rotengle	ROT	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	10	2 581
Silure	SIL	<i>Silurus glanis</i>	*	
Tanche	TAN	<i>Tinca tinca</i>	6	786



* : Quantité d'ADN insuffisante pour certifier la détection du taxon dans l'échantillon.

Tableau 14 : Résultats des analyses ADNe sur la station Canal2 et abondances relatives associées

La diversité de la station Canal2 est la plus importante avec 20 taxons différents détectés. Les différences avec la station amont Canal1 sont les suivantes :

- Absence de l'Épinoche
- Présence de la Lamproie et de la Loche de rivière.

Les explications quant à la présence d'ADN d'espèces piscicoles de première catégorie restent similaires à celles émises lors du descriptif de la station Canal 1. En revanche, des divergences peuvent être observées comme la proportion de séquences plus importante de ces espèces de première catégorie (station plus à l'aval de la confluence Basse Meldyck/Canal à Grand gabarit) et la détection de la Loche de rivière (proximité de la confluence avec le Zieux, un wateringue où la Loche de rivière fut détectée).

Par rapport aux autres milieux la proportion de séquences ADN de Sandre, de Chabot, d'Ide mélanote/Vandoise, de Truite arc-en-ciel, de Flet et de Truite Fario est ici la plus importante. L'observation des abondances relatives des séquences ADN met en évidence une forte dominance du Sandre et de la Grémille par rapport au Brochet.

Par rapport aux taxons exotiques, le Gobie à taches noires est détecté et des traces d'ADN de Silure sont notifiées (quantité insuffisante pour certifier la détection). Ces traces ADN peuvent être issues du Zieux (où le Silure a été détecté) ou d'individus solitaires évoluant dans le Canal (ne relâchant pas assez d'ADN dans un milieu de ce gabarit).

La station du Landsberg



Diversité	14
Taxon le plus représenté (réplicats positifs/nbre de séquences)	Brème commune (12/98 569)
Taxon le moins représenté (réplicats positifs/nbre de séquences)	Carassin (5/132)
ANG, CHA, BRO, ABH	
Espèces d'intérêt patrimoniales	

Landsberg			
Nom vernaculaire	CODE taxon	Nom scientifique	
Brème commune	BRE	<i>Abramis brama</i>	12
Ablette	ABL	<i>Alburnus alburnus</i>	12
Anguille	ANG	<i>Anguilla anguilla</i>	11
Carassin	CAS	<i>Carassius sp.</i>	5
Chabot	CHA	<i>Cottus sp.</i>	9
Carpe commune	CCO	<i>Cyprinus carpio</i>	11
Brochet	BRO	<i>Esox lucius</i>	12
Gremille	GRE	<i>Gymnocephalus cernuus</i>	12
Able de Heckel	ABH	<i>Leucaspius delineatus</i>	5
Perche fluviatile	PER	<i>Perca fluviatilis</i>	12
Gardon	GAR	<i>Rutilus rutilus</i>	12
Sandre	SAN	<i>Sander lucioperca</i>	12
Rotengle	ROT	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	12
Tanche	TAN	<i>Tinca tinca</i>	12

	Nombre de répliquats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN
Brème commune	12	98 569
Ablette	12	3 268
Anguille	11	1 363
Carassin	5	132
Chabot	9	1 339
Carpe commune	11	411
Brochet	12	6 015
Gremille	12	19 290
Able de Heckel	5	122
Perche fluviatile	12	23 063
Gardon	12	69 857
Sandre	12	3 175
Rotengle	12	4 468
Tanche	12	2 784

Tableau 15 : Résultats des analyses ADN sur la station Landsberg et abondances relatives associées

14 taxons sont détectés sur la station du Landsberg. Le peuplement est diversifié et classique des eaux dormantes avec une proportion importante de cyprinidés et de poissons piscivores ; mis à part la présence de chabot mise en évidence sur cette station. Cette donnée est inattendue puisqu'aucun cours d'eau salmonicole n'est proche du Landsberg ni même le Canal (avec son apport possible d'ADN explicité ci-dessus). Une des seules explications plausibles est l'attrait du

secteur Landsberg pour l'espèce Chabot. En effet, de nombreuses zones de sources y sont recensées ainsi que des habitats de type blocs, une eau claire et une végétation diversifiée. Il est ainsi éventuellement possible qu'une population relictuelle y ait élu domicile. Au regard de la bonne qualité chimique de l'eau dans cette zone, il était attendu de retrouver certaines espèces supplémentaires comme le Goujon ou la Loche de rivière ce qui n'est pas le cas.



Diversité	18
Taxon le plus représenté (réplicats positifs/nbre de séquences)	Brème commune (12/ 118 132)
Taxon le moins représenté (réplicats positifs/nbre de séquences)	Truite Fario (3/256)
Espèces d'intérêt patrimoniales ANG, LOR, BRO, BOU, TRF	

Saint - Omer				
Nom vernaculaire	CODE taxon	Nom scientifique	Nombre de répliquats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN
Brème commune	BRE	<i>Abramis brama</i>	12	118 132
Ablette	ABL	<i>Alburnus alburnus</i>	12	4 238
Anguille	ANG	<i>Anguilla anguilla</i>	12	2 370
Loche de rivière	LOR	<i>Cobitis taenia</i>	7	444
Carpe commune	CCO	<i>Cyprinus carpio</i>	5	363
Brochet	BRO	<i>Esox lucius</i>	12	7 247
Goujon	GOU	<i>Gobio sp.</i>	9	845
Gremille	GRE	<i>Gymnocephalus cernuus</i>	12	28 830
Ide Melanote/Vandoise	IDE/VAN	<i>Leuciscus sp.</i>	9	516
Truite arc-en-ciel	TAC	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	12	5 425
Perche fluviatile	PER	<i>Perca fluviatilis</i>	12	34 708
Bouvière	BOU	<i>Rhodeus amarus</i>	12	1 396
Gardon	GAR	<i>Rutilus rutilus</i>	12	70 369
Truite Fario	TRF	<i>Salmo trutta</i>	3	256
Ombre	OBR	<i>Thymallus thymallus</i>	7	1 054
Sandre	SAN	<i>Sander lucioperca</i>	12	6 326
Rotengle	ROT	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	12	5 473
Tanche	TAN	<i>Tinca tinca</i>	12	4 958

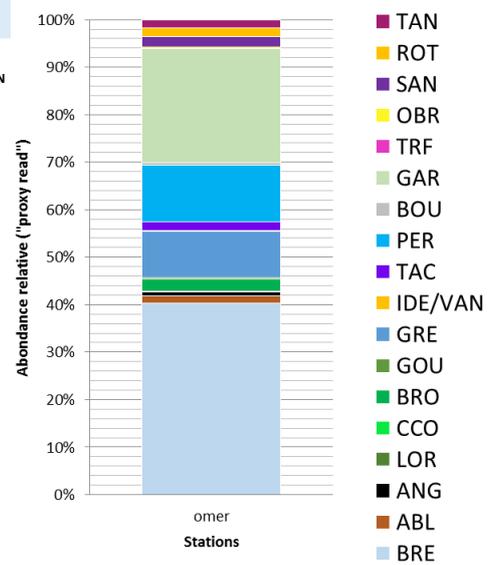


Tableau 16 : Résultats des analyses ADNe sur la station Omer

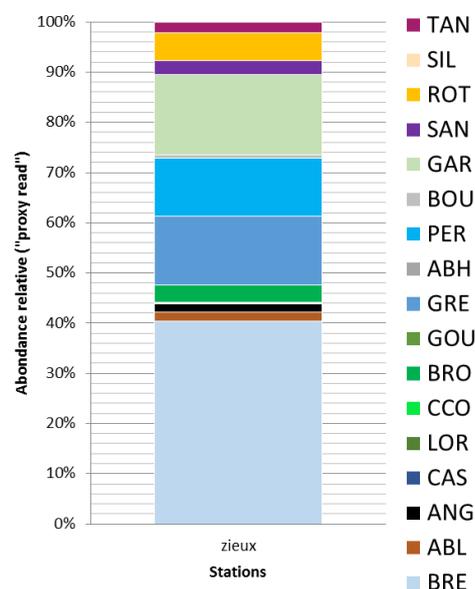
Le prélèvement réalisé sur la station située au Nord des canaux de Saint-Omer (secteur dit du Doulac) présente une liste étonnamment plus diversifiée qu'escomptée. En effet ce secteur est fortement anthropisé, présente des berges majoritairement pauvres en habitats avec des défenses de berge non appropriées. Ses particularités ainsi que sa proximité avec le Canal ne semblaient pas rendre cette station

aussi attractive pour ces espèces listées ici. 18 taxons sont détectés avec la présence de 6 espèces d'intérêt patrimonial dont la Bouvière et une espèce polluosensible le Goujon. On note juste la détection de 2 espèces de salmonidés vraisemblablement issues du Canal ou de la connexion avec la Basse Meldyck (à environ 1 km au plus proche). Il s'agit de la Truite fario et de la Truite arc-en-ciel.



Diversité	17
Taxon le plus représenté (réplicats positifs/nbre de séquences)	Brème commune (12/101 313)
Taxon le moins représenté (réplicats positifs/nbre de séquences)	Silure glane (2/134)
Espèces d'intérêt patrimoniales ANG, LOR, BRO, ABH, BOU	

Zieux				
Nom vernaculaire	CODE taxon	Nom scientifique	Nombre de répliquats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN
Brème commune	BRE	<i>Abramis brama</i>	12	101 313
Ablette	ABL	<i>Alburnus alburnus</i>	12	4 789
Anguille	ANG	<i>Anguilla anguilla</i>	11	3 761
Brème bordelière	BRB	<i>Blicca bjoerkna</i>	*	
Carassin	CAS	<i>Carassius sp.</i>	3	148
Loche de rivière	LOR	<i>Cobitis taenia</i>	2	198
Carpe commune	CCO	<i>Cyprinus carpio</i>	6	654
Brochet	BRO	<i>Esox lucius</i>	12	8 423
Goujon	GOU	<i>Gobio sp.</i>	3	288
Gremille	GRE	<i>Gymnocephalus cernuus</i>	12	34 246
Able de Heckel	ABH	<i>Leucaspis delineatus</i>	3	154
Perche fluviatile	PER	<i>Perca fluviatilis</i>	12	29 053
Bouvière	BOU	<i>Rhodeus amarus</i>	8	1 369
Gardon	GAR	<i>Rutilus rutilus</i>	12	40 408
Sandre	SAN	<i>Sander lucioperca</i>	12	6 654
Rotengle	ROT	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	12	13 947
Silure	SIL	<i>Silurus glanis</i>	2	134
Tanche	TAN	<i>Tinca tinca</i>	12	5 518



* : Quantité d'ADN insuffisante pour certifier la détection du taxon dans l'échantillon.

Tableau 17 : Résultats des analyses ADNe sur la station du Zieux

Le wateringue Zieux est localisé à la limite du périmètre (au Sud) de la RNN du Romelaëre et conflue avec le Canal plus au Sud. Son potentiel en termes d'accueil d'espèces piscicoles est fort puisqu'il s'agit de la station à la diversité la plus élevée avec le Canal (1 et 2) et la station de Saint-Omer qui présentent tous les trois des espèces provenant d'un contexte salmonicole.

Les taxons les plus présents en termes de nombre de séquences ADN sont les cyprinidés (majoritairement Brème commune, Gardon et

Rotengle) et les percidés. 5 espèces d'intérêt patrimonial y sont recensées dont la Bouvière, l'Able de Heckel et la Loche de rivière.

En revanche, le Silure glane a été détecté sur la station. Des doutes étaient émis quant à sa présence mais en voici la confirmation. Toutefois le nombre de répliquats positifs et de séquences détectées étant très faible, il est possible que seuls quelques individus isolés soient présents sur cette zone pour le moment.

Résultats de l'approche multi-spécifique sur le Romelaëre

Nom vernaculaire	CODE taxon	Nom scientifique	Romelaëre 1		Romelaëre 2		Romelaëre 3	
			Nombre de réplicats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN	Nombre de réplicats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN	Nombre de réplicats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN
Brème commune	BRE	<i>Abramis brama</i>	12	133 061	12	193 028	12	157 613
Ablette	ABL	<i>Alburnus alburnus</i>	6	3 662			3	243
Anguille	ANG	<i>Anguilla anguilla</i>	5	3 937	8	19 107	9	6 721
Brème bordelière	BRB	<i>Blicca bjoerkna</i>	4	22 153	2	20 628		
Carassin	CAS	<i>Carassius sp.</i>	3	156	5	537	4	1 010
Amour blanc/Carpe argentée	CTI	<i>Cyprinidae - Complexe 2</i>	2	373	5	18 983	1	187
Carpe commune	CCO	<i>Cyprinus carpio</i>	7	1 301	11	15 988	10	7 658
Brochet	BRO	<i>Esox lucius</i>	6	7 552	3	14 492	4	7 486
Gremille	GRE	<i>Gymnocephalus cernuus</i>	9	26 040	9	50 528	6	4 138
Able de Heckel	ABH	<i>Leucaspius delineatus</i>			*			
Perche fluviatile	PER	<i>Perca fluviatilis</i>	7	10 156	3	9 154	3	3 276
Bouvière	BOU	<i>Rhodeus amarus</i>	*					
Gardon	GAR	<i>Rutilus rutilus</i>	12	28 155	9	33 648	5	6 979
Sandre	SAN	<i>Sander lucioperca</i>	7	8 863	3	7 448	11	12 344
Rotengle	ROT	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	12	30 453	10	45 788	8	6 014
Tanche	TAN	<i>Tinca tinca</i>	9	11 643	1	2 246	7	5 558

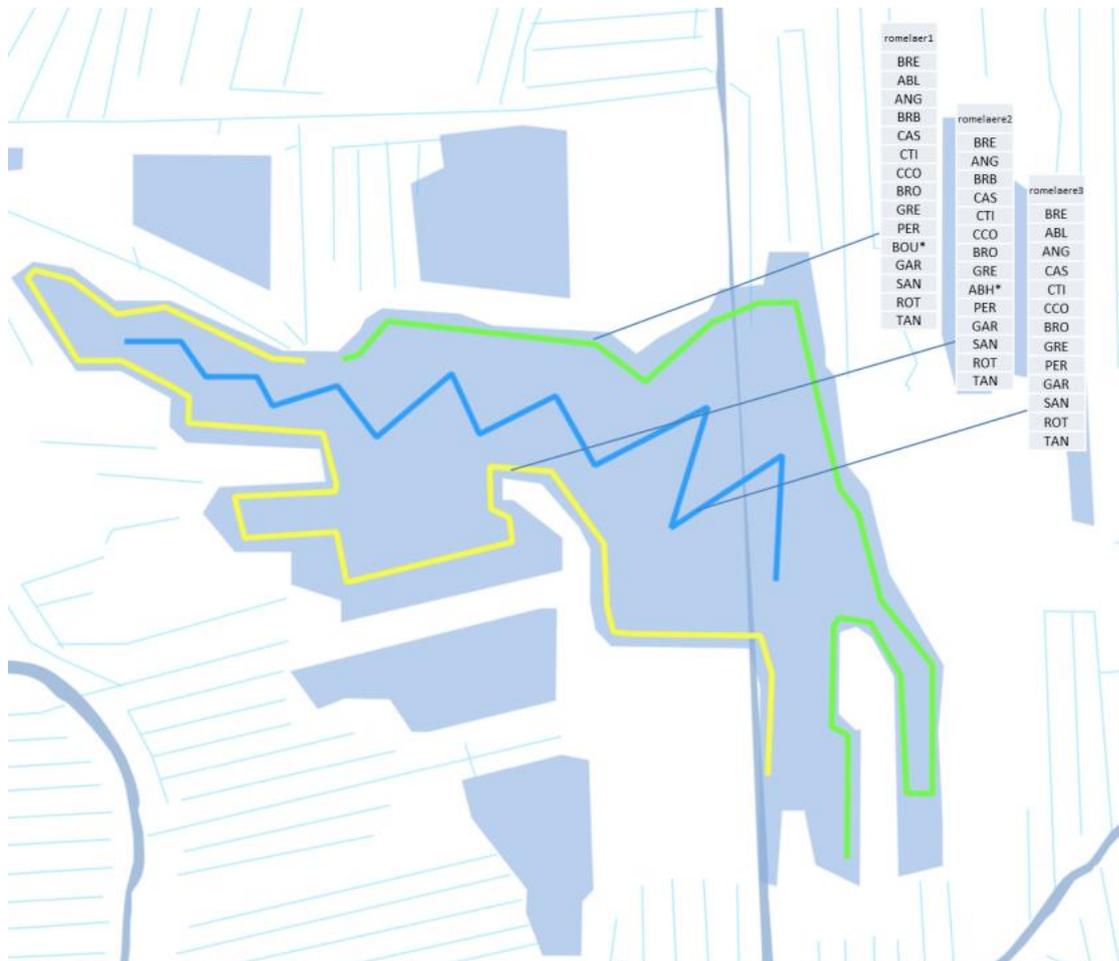


Tableau 18 : Résultats des analyses ADNe sur les 3 stations situées sur la RNN du Romelaëre.

* nombre de séquences insuffisantes pour détecter l'espèce avec certitude.

	Romelaëre 1	Romelaëre 2	Romelaëre 3
Diversité	14	13	13
Taxon le plus représenté (réplicats positifs/nbre de séquences)	Brème commune (12/133 061)	Brème commune (12/193 028)	Brème commune (12/157 613)
Taxon le moins représenté (réplicats positifs/nbre de séquences)	Carassin (2/373)	Carassin (5/537)	Cyprinidés - Complexe 2 (1/187)
Espèces d'intérêt patrimoniales	ANG, BRO	ANG, BRO	ANG, BRO

Tableau 18bis : Résultats des analyses ADNe sur les 3 stations situées sur la RNN du Romelaëre.

Le grand étang principal de la RNN du Romelaëre présente une diversité spécifique de 14 taxons confirmés. En revanche, si on tient compte des deux taxons non détectés de manière significative (Bouvière et Able de Heckel) cela porterait la richesse spécifique à 16. Ces deux taxons ne sont en effet pas significativement détectés sur l'étang principal mais sont détectés dans le Zieux dont une partie est comprise dans le périmètre de la réserve. Le wateringue Zieux étant connecté à la RNN du Romelaëre, il est probable que ces espèces s'y trouvent en moindre nombre (Bouvière échantillonné en pêche par points en 2016 et sur l'étang de Degazelle en 2019 lors du Focus Brochet).

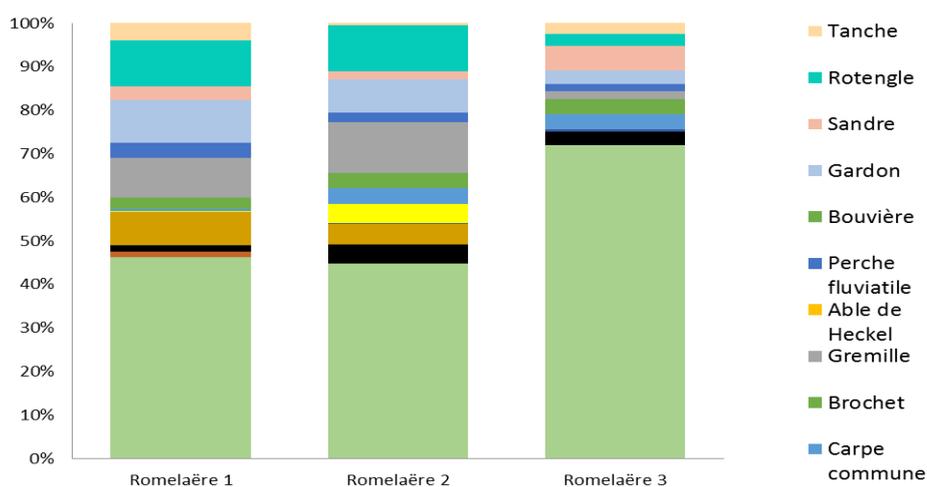


Figure 19 : Pourcentages d'abondances relatives des nombres de séquences obtenues sur la RNN du Romelaëre.

Les espèces les plus représentées en termes de nombre de séquences sont la Brème commune (qui domine très largement les peuplements des trois stations en termes de pourcentage d'abondance relative ; à raison de 46.3% pour la station 1, 44.7% pour la 2 et 71.9% pour la 3). Les autres espèces bien représentées sont la Grémille sur Romelaëre2 (11.7%), le Rotengle (10.6%) sur Romelaëre1 et le Sandre (5.6%) sur Romelaëre3.

Le nombre de séquences total dénombré est pratiquement deux fois plus importants sur Romelaëre2 (431 575) que sur Romelaëre 1 (287 505) et 3 (219 227). Certains taxons comme L'Anguille, la Carpe commune, la Grémille, l'Amour blanc, semblent plus inféodés à la station Romelaëre 2. Celle-ci est la zone la plus ombragée du site, située plus au sud et à l'abri du vent.

Comparaison avec les données antérieures sur la masse d'eau plan d'eau Romelaëre (FRAL01)

Grâce au déploiement de 5 inventaires entre 2016 et 1975, il est possible d'émettre un comparatif entre la technique ADNe et les pêches électriques « grand milieu » par échantillonnage ponctuel d'abondance (EPA) et les pêches aux filets maillants (tableau19).

En effet, le périmètre de la RNN du Romelaëre a pu faire l'objet de plusieurs inventaires (données non exhaustives issues du plan de gestion de la RNN) :

- Inventaires par EPA en 2016 dans le cadre d'un rapport ayant trait à l'amélioration des connaissances sur les ENS du Pas-de-Calais (*Diagnostic piscicole et mésologique des entités hydrauliques de la RNN du Romelaëre, 28p, FDAAPPMA62*). Mais celui-ci a aussi couvert certains étangs adjacents supplémentaires par rapport à l'étude ADNe.
- La réserve est classée masse d'eau plan d'eau DCE depuis 2007. A ce titre, elle a fait l'objet d'inventaires réguliers à l'aide de la méthode scandinave (filets benthiques) en 2009 et 2016 sur l'étang principal.
- Inventaires à l'électricité réalisés par le Conseil Supérieur de la Pêche en 1975 et en 1996. (Sur l'étang principal, les cours d'eau et les étangs secondaires annexes pour 1996 ; non renseigné pour 1975).

nom scientifique	nom vernaculaire	2018 (ADNe)	2016 (epa)	2016 (filets)	2009 (filets)	1996 (étang principal)	1996 (ensemble réseau)	1975
<i>Leucaspis delineatus</i>	Able de Heckel	*						NR
<i>Alburnus alburnus</i>	Ablette	X	X	X	X		X	NR
<i>Anguilla anguilla</i>	Anguille	X	X	X	X	X	X	NR
<i>Rhodeus amarus</i>	Bouvière	*	X				X	NR
<i>Blicca bjoerkna</i>	Brème bordelière	X	X	X	X		X	NR
<i>Abramis brama</i>	Brème commune	X	X	X	X	X	X	NR
<i>Esox lucius</i>	Brochet	X	X			X	X	NR
<i>Carassius sp.</i>	Carrasin	X	X	X	X		X	NR
<i>Cyprinus carpio</i>	Carpe commune	X	X**	X	X**		X	NR
<i>Ctenopharyngodon idella</i>	Amour blanc	X						NR
<i>Gasterosteus aculeatus</i>	Epinoche			X	X		X	NR
<i>Rutilus rutilus</i>	Gardon	X	X	X	X	X	X	NR
<i>Gobio sp.</i>	Goujon		X				X	NR
<i>Gymnocephalus cernuus</i>	Gremille	X	X	X	X	X	X	NR
<i>Perca fluviatilis</i>	Perche fluviatile	X	X			X	X	NR
<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	Rotengle	X	X	X		X	X	NR
<i>Sander lucioperca</i>	Sandre	X	X	X	X	X	X	NR
<i>Tinca tinca</i>	Tanche	X	X			X	X	NR
Diversité		14 (16*)	15	11	10	9	16	11

Tableau 19 : Présence/absence des taxons retrouvés au fil des suivis comparativement à l'étude ADNe sur la RNN du Romelaëre. " * " : Quantité d'ADN insuffisante pour certifier la détection du taxon dans l'échantillon. "***"+Carpe miroir CMI (même espèce du point de vue ADN)

Bénéfice de l'ADNe :

Les données ADNe ont permis d'identifier une espèce supplémentaire sur l'étang principal par rapport à l'ensemble des suivis historiques. Il s'agit des cyprinidés - Complexe 2 (*Ctenopharyngodon idella* ou *Hypophthalmichthys molitrix*, l'analyse ADNe ne permettant pas de faire le distinguo entre ces deux espèces proches). Après des échanges avec le syndicat mixte Eden62, il a été possible de caractériser l'espèce Amour blanc par le biais d'une photographie. Il est peu probable que la Carpe argentée soit présente sur le site. En revanche, l'Able de Heckel n'a jamais été retrouvé dans les inventaires piscicoles passés.

Défaillance de l'ADNe :

Les données de pêches électriques et d'échantillonnages aux filets benthiques ont permis de mettre en évidence l'Epinoche, le Goujon et la Bouvière (traces non significatives détectées) non détectées via la méthode de l'ADNe en 2018.

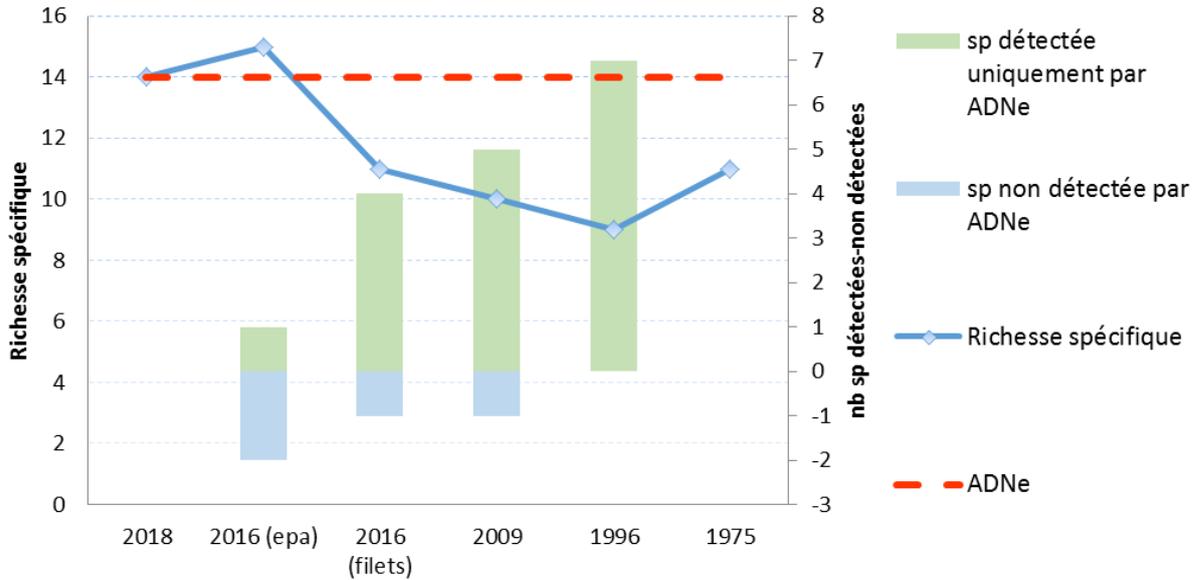


Figure 20 : Comparatif entre les années de la diversité obtenue et du nombre de taxons détectés uniquement par ADNe ou non détectés par cette méthode.

Les espèces non détectées par ADNe sont toutes les trois des espèces de petites tailles présentes en faible effectif dans le secteur. Effectif Bouvière par exemple ; 2 en 2016 (EPA) et 6 en 1996 dont aucune sur l'étang principal. Goujon non échantillonné sur l'étang principal mais dans les annexes où dans le wateringue Zieux en 1996.

La liste faunistique la plus proche de celle obtenue via la méthode ADNe est celle de la

pêche par 75 EPA de 2016 réalisée par la FDAAPPMA62.

Si on compare cette fois la liste obtenue par ADNe individuellement avec chaque année (Figure 20), on arrive à une moyenne de 4 taxons supplémentaires détectés ($4,25 \pm 1,75$), contre 1 taxon non détecté en 2009 et 2016 (aux filets) et 2 en 2016 (EPA).

Comparaison avec les données antérieures sur le Marais Audomarois

Comme il le fut présenté dans la partie introductive du rapport, le projet FBMA a émergé suite au constat d'un manque de données ichtyologiques sur le secteur. De ce fait, peu de comparatifs seront possibles. En effet, aucune donnée réellement exploitable n'est antérieure à 2010.

Néanmoins :

- Des pêches d'inventaires furent réalisées sur 7 stations du marais Ouest (Etude Natura2000 – Pêche par ambiance). Le but de l'étude était de mettre en évidence des espèces d'intérêt communautaire dans des annexes du marais (fossés et plans d'eau semi-ouverts).
- Des pêches par EPA furent réalisées dans le secteur d'étude lors du projet Connect'AH (Quelles annexes hydrauliques doit-on connecter pour améliorer la fonctionnalité des communautés de poissons des cours d'eau anthropisés du Pas-de-Calais ?). Ces échantillonnages ont été réalisés à l'aide d'un Electrofishing boat® et en pêche embarquée type pneumatique entre 2015 et 2016.
- Les stations d'inventaires du Focus RCS (2018-2019) du projet FBMA ont été superposées sur le trajet de l'échantillonnage.

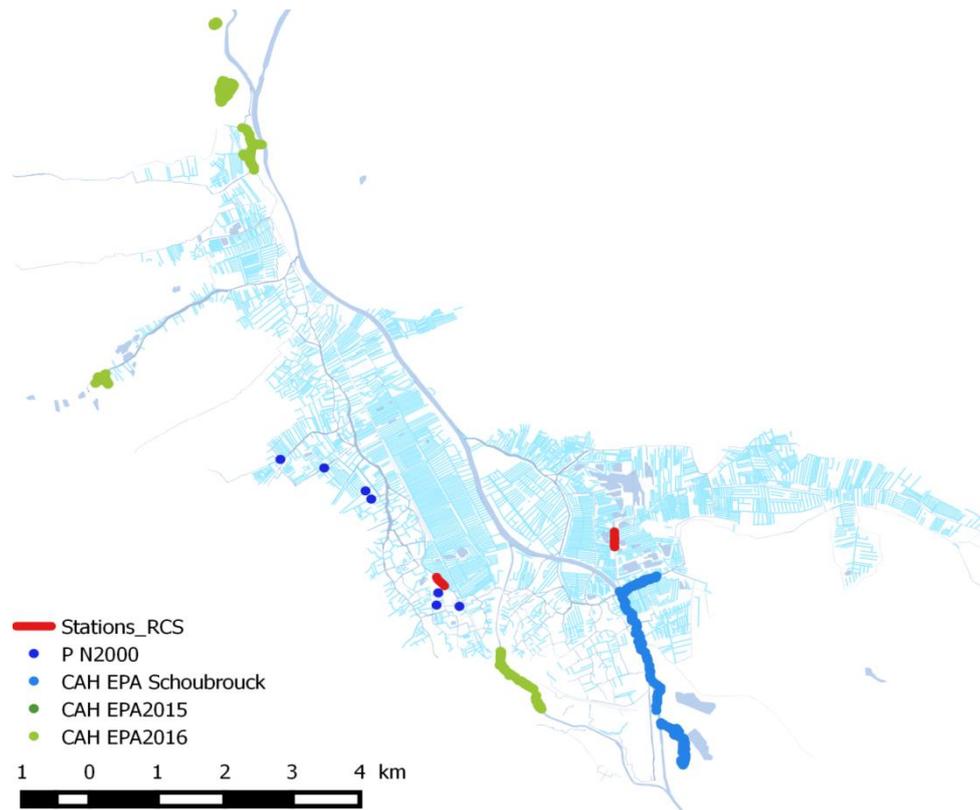


Figure 20 : Points de prélèvements des anciennes actions de pêche électrique sur l'Audomarois. (CAH pour projet Connect'AH).

nom scientifique	nom vernaculaire	N2000 (2010)	Schoubrouk (2015)	B24canal (2015)	ZH51houlle (2016)	IPR-OUEST (2018)	IPR-EST (2018)	IPR-OUEST (2019)	IPR-EST (2019)
<i>Leucaspis delineatus</i>	Able de Heckel		X						
<i>Alburnus alburnus</i>	Ablette	X	X	X		X	X	X	X
<i>Anguilla anguilla</i>	Anguille	X	X			X		X	
<i>Blicca bjoerkna</i>	Brème bordelière			X		X	X		X
<i>Abramis brama</i>	Brème commune	X		X	X	X	X	X	X
<i>Rhodeus amarus</i>	Bouvière						X		
<i>Esox lucius</i>	Brochet	X	X			X	X	X	X
<i>Cyprinus carpio</i>	Carpe commune			X					
<i>Carassius sp.</i>	Carrasin					X	X		
<i>Gasterosteus aculeatus</i>	Épinoche	X							
<i>Rutilus rutilus</i>	Gardon	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Gymnocephalus cernuus</i>	Gremille	X		X		X	X	X	X
<i>Gobio sp.</i>	Goujon								X
<i>Perca fluviatilis</i>	Perche fluviatile	X	X	X		X	X	X	X
<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	Rotengle				X	X	X		X
<i>Sander lucioperca</i>	Sandre			X			X	X	X
<i>Tinca tinca</i>	Tanche	X							
<i>Cobitis taenia</i>	Loche de rivière	X							
<i>Cyprinidae nd</i>	Cyprinidae nd		X						
Diversité		10	7	8	3	10	11	8	11

Tableau 19 : Présence/absence des taxons retrouvés au fil de plusieurs suivis historiquement réalisés dans le marais Awdudomarois.

Les comparatifs seront émis à titre indicatif puisque, hormis les stations RCS IPR-OUEST et IPR-EST, aucune des autres stations n'est superposée avec une station ADNe. Malgré tout, chacune d'entre elles permet d'établir un constat. Nous pouvons comparer ; la Houlle, le Canal à Grand gabarit et le Schoubrouk dans le cadre de Connect'AH ainsi que le Landsberg et le Grand Large pour les inventaires sur le périmètre Natura2000. Les linéaires échantillonnés par pêche étaient toutefois en général bien moindres que le linéaire filtré via la méthode ADNe (moyenne : 1795,5±352,9m).

- Sur la Houlle : uniquement 3 espèces ont été retrouvées en 2016 contre 15 pour l'ADNe en 2018. L'ADNe a ici permis de mettre en évidence 80% des taxons supplémentaires dont 5 espèces patrimoniales.
- Sur le Canal et le Schoubrouk : la station ADNe la plus proche des points de pêches de 2015 est la station Canal 2. L'ADNe nous apporte ici une contribution de 64% de taxons supplémentaires.
- Sur le Marais Ouest (du Landsberg au Grand Large) : l'ensemble des stations Natura2000 de 2010 ont permis de mettre en évidence 10 taxons différents contre 14 pour le Grand Large et le Landsberg. Avec une contribution de 7 nouveaux taxons pour l'ADNe mais 2 non retrouvés. Il s'agit de la Loche de rivière et de l'Épinoche.
- Sur le Zieux et le Grand Large / Ketestroom via les échantillonnages réalisés dans le cadre du Focus RCS :
 - 18 espèces sont détectées par analyse ADNe contre 11 en 2018 et 10 en 2019 pour l'inventaire sur le Zieux.
 - 14 espèces sont détectées par analyse ADNe contre 10 en 2018 et 8 en 2019 pour l'inventaire sur le Grand Large / Ketestroom.

Comparatif global inter-stations

Un dernier comparatif peut être proposé entre l'ensemble des stations ADNe de 2018.

Pour ce faire une Analyse Factorielle des Correspondances (AFC) peut être produite. Cette méthode d'analyse multivariée est une

méthode qui permet d'étudier l'association entre deux variables qualitatives. Cette figure permet de visualiser graphiquement l'association entre les éléments de lignes et de colonnes dans un graphique à deux dimensions.

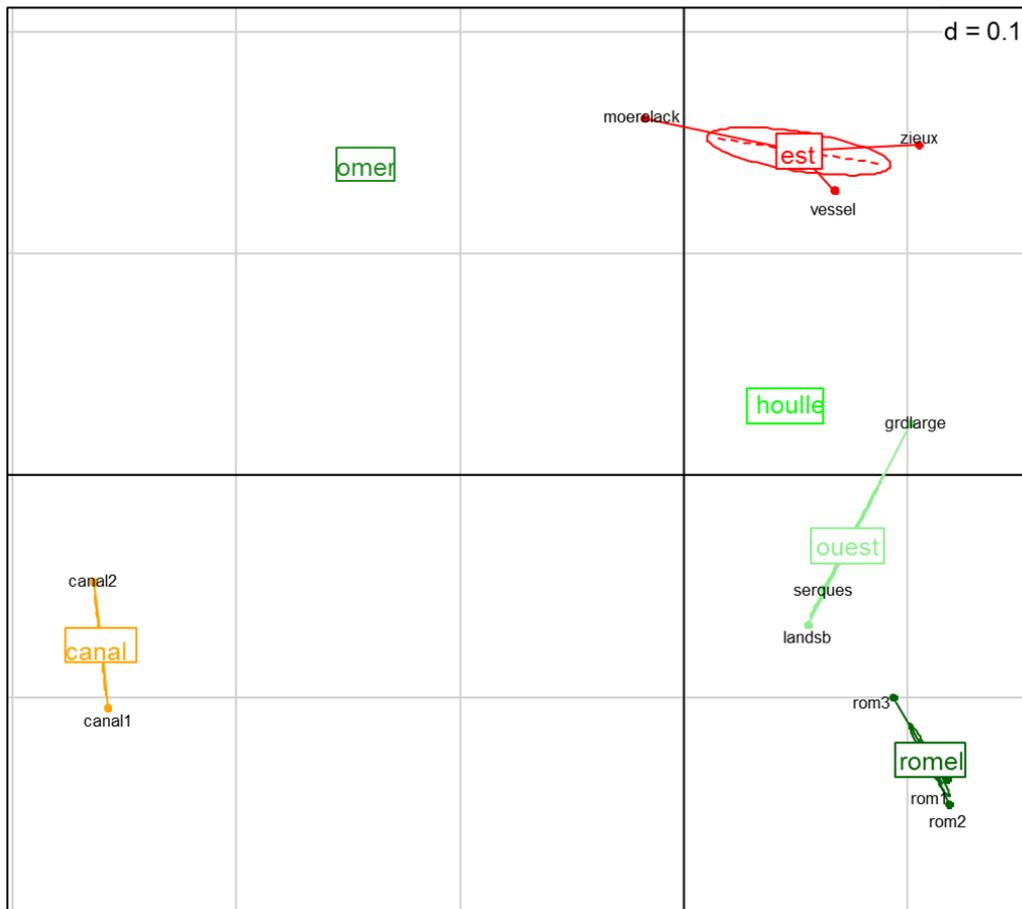


Figure 21 : Résultats de l'Analyse Factorielle des Correspondances (AFC) effectuée sur la liste de présence/absence des espèces piscicoles en fonction des 13 stations étudiées, selon les deux premiers axes de plus grande variabilité.

Les résultats de l'AFC ont montré que les listes d'espèces de poissons étaient relativement similaires entre les trois sites situés sur le Marais Ouest, entre les trois sites du Marais

Est, entre les deux stations du Canal et entre les trois stations de la RNN. Par contre, les stations du Canal et de la ville de Saint-Omer semblent être globalement très différentes des autres.

Retour d'expérience

Le protocole a permis de détecter des espèces sur l'ensemble des stations. La mise en place de ce protocole sur cette typologie de milieu, à savoir dans un hydrosystème lentique, poldérisé, hyper-eutrophe, turbide et de grande surface a été jugé pertinente. En effet, le caractère singulier de la zone d'étude a donné lieu à des réflexions et des échanges entre la FDAAPPMA 62 et le laboratoire SpyGen. Des recommandations ont été émises pour résoudre le problème de colmatage de la membrane lié à la trop forte turbidité de l'eau du Marais. Ces recommandations ont été mises en exergue avec un comparatif d'un retour d'expérience de chercheurs Hollandais. Celui-ci s'appuyait donc sur l'usage de deux grands sacs stériles dans lesquels était prélevé le volume d'eau total nécessaire en vue d'être

homogénéisé et par la suite être filtré (cf p.10). Mais en définitive, cette méthode ne fût usitée que très rarement.

Sachant que les prélèvements ont été réalisés à l'aide d'une embarcation, ceux-ci ont fait l'objet d'un travail en binôme afin de limiter les risques de contamination des échantillons. Il est bien évidemment convenu que les moyens humains déployés pour les prélèvements ne sont pas comparables aux moyens humains et à la logistique qu'il faut déployer avec des techniques d'inventaires traditionnels embarqués. La méthode ADNe prend tout son sens dans le cadre d'un complément de données dans des secteurs non prospectables avec les méthodes d'inventaires traditionnels.

Un apport de données précieux

Si dans notre cas nous n'avons pas pu mettre en évidence la présence de Loche d'étang, le débat reste ouvert sur sa présence ou sa non-présence. En effet, même si une espèce n'est pas détectée, il n'est jamais véritablement possible de valider avec certitude son absence. Cela peut être le cas avec ce genre d'espèces très discrètes surtout dans un si vaste dédale de canaux, d'étangs privés et de fossés. Mais au vue de l'absence totale de détection dans l'ensemble des prélèvements (notamment dans la RNN du Romelaëre ou de la ferme du Zuidbrouck, deux milieux qui ont des qualités mésologiques propices pour l'accueil de cette espèce) et de l'absence de l'espèce dans tous les relevés ou déclarations historiques, guère d'espoir est permis.

Cette espèce « En danger » (statut EN ; IUCN 2019), aussi discrète de par ses mœurs, semble donc plutôt inféodée aux cours d'eau du département du Nord (59). Nos collègues de la FDAAPPMA59 ont en effet pu, par le biais d'inventaires piscicoles, la mettre en évidence sur plusieurs sites proches de la ville de Lille et plus précisément sur la Marque. Dorénavant grâce notamment à une étude ADNe récente (*Approfondir la connaissance de la biodiversité piscicole à l'aide d'un outil innovant : l'ADN environnemental*, FDAAPPMA59, 2018), celle-ci a pu être détectée au-delà des stations connues (augmentation de l'aire de répartition).

En revanche, d'autres taxons d'intérêt patrimonial ont pu être mis en évidence comme nous avons pu le voir (Bouvière, Loche de rivière, etc.).

Même si aucun des taxons remarquables n'avait déjà été relevé dans les données historiques au moins une fois, grâce à l'ADNe, la plupart des taxons ont été détectés de manière ponctuelle (par exemple Able de Heckel une seule fois ou Bouvière uniquement dans la RNN du Romelaëre). Le fait est que ces taxons à forte valeur patrimoniale ont pu être répartis avec une plus grande précision géographique et validés dans des secteurs différents de ceux échantillonnés par inventaire traditionnel.

On peut par exemple citer la Bouvière ou la Loche de rivière, uniquement révélées dans la RNN du Romelaëre pour la Bouvière (2016) et dans certains fossés compris dans le périmètre Natura 2000 en 2010 (NPC 022 ; FR3100495) pour la Loche de rivière. L'ADNe nous a permis de mettre en évidence ces deux taxons (inscrits en Annexe II de la DHFF) sur 5 stations pour la Loche de rivière (38% des stations) et 6 stations pour la Bouvière (46% des stations). Une telle occurrence n'était pas forcément attendue aux prémices de l'étude et dans certaines zones. En effet, ces deux taxons ont été principalement révélés dans les canaux en pourtour de la ville de Saint-Omer et dans le wateringue de la Vesseliette, deux zones qui semblaient de prime abord moins attractives de par la qualité chimique de l'eau notamment.

De manière plus globale, des disparités géographiques ont été mises en évidence. Certains taxons comme la Loche de rivière et le Goujon ont uniquement été relevés dans des stations à l'Est du Canal (partie Est du marais Audomarois). D'autres taxons ne semblent pas inféodés à des secteurs particuliers (Bouvière et Able de Heckel plus ou moins répartis aussi bien à l'Est qu'à l'Ouest du périmètre Ramsar). Ces données seront prépondérantes pour des initiatives de gestion et de protections.

Au même titre que la mise en évidence d'espèces patrimoniales, exposer la présence de certains taxons exotiques est un renseignement essentiel (Gobie à taches noires exclusivement sur le Canal, Amour blanc sur le Romelaëre et le Silure glane sur le Zieux notamment). Pour le moment, ces espèces semblent très sectorisées.

En définitive, l'outil ADNe nous a semblé complémentaire et pertinent notamment dans le cadre de la mise à jour de l'atlas faunistique du marais Audomarois, de la surveillance d'espèces exotiques et de la répartition d'espèces patrimoniales.

Obstacles à l'analyse, poursuites et attentes

Si la méthode nous a permis des avancées importantes dans la production de listes ichtyologiques sectorisées appréciables, nous avons aussi fait face à certains obstacles.

Dans notre cas, la présence des deux taxons Vandoise et Ide mélanote est avérée dans le contexte cuvette Audomaroise (données de captures). Or l'ADNe ne permettant pas de distinguer ses deux taxons, nous ne pouvons qu'émettre des hypothèses quant à leurs sectorisations. La prise en compte de ce facteur peut potentiellement changer la diversité de 1 ou 2 points. Ici ces taxons semblent plutôt inféodés à l'hydrosystème canalisé.

Il est certain que bon nombre de scientifiques et gestionnaires seraient intéressés par la possibilité de distinguer ces deux taxons ou les autres listés dans le tableau 2 p.22. Cela pourrait apporter bon nombre d'informations. Mais il est à considérer que cela peut rester une éventualité de ne pas pouvoir distinguer la Lamproie fluviatile de la Lamproie de Planer ou la Truite fario de la Truite de mer, ces espèces étant des écotypes (même ADN).

Des attentes riches d'enjeux sont aussi répandues avec l'estimation quantitative des espèces par l'outil ADNe. Les recherches sur cette thématique sont de plus en plus abondantes (Teruhiko 2012, Pont 2018). D'ailleurs, des travaux sont actuellement engagés en vue de compléter voire même de remplacer les méthodes de bio-évaluations. (Valentini 2016, Lefrancois 2018).

Vers un outil de veille des marais ou des grandes surfaces lenticues

Les limites et les avantages de la méthode sont déjà très largement présentés dans la bibliographie actuelle (Taberlet et al. 2012, Dejean 2012, P.Jean 2013, P.Didier 2018). Nous avons pu mettre en pratique son déploiement et par cette action valider la plupart de ces affirmations (facilité de mise en place, méthode non intrusive, détection de taxons supplémentaires par rapports aux inventaires classiques...).

Il apparait de notre côté que la technique de l'ADNe nous a permis de déterminer plus de taxons que lors d'inventaires classiques (comparatif temporel sur la RNN du Romelaere ou avec les inventaires RCS ou encore les pêches de Connect'AH). Même si ces méthodes ne sont pas comparables dans tous les cas (linéaire ou surface échantillonnés différents), il apparait dans la bibliographie qu'en termes de détection en grand milieu, l'ADNe montrent fréquemment des résultats supérieurs aux méthodes classiques en termes de nombre de taxons détectés comme dans le Rhône ou d'autres grands milieux comme le lac d'Aiguebelette (Pont 2018, Civade 2016). Cela peut être en partie imputé à la difficulté d'échantillonner les grands milieux (exhaustivité).

De plus il apparait que l'interprétation de données provenant de milieux lotiques, est moins aisée que celle qui peut être réalisée en milieu lentique (notion de flux de gènes) où l'ADNe reste dans la zone où il est relargué. En effet, cela est dû à la résilience plus ou moins longue des brins d'ADN qui ont un comportement proche des molécules organiques, en milieu lotique. Ceux-ci peuvent être retrouvés bien plus à l'aval (Dejean 2011, Civade 2016).

Il peut également être envisageable de mettre en place des réseaux de surveillances des espèces exotiques ou des espèces patrimoniales ayant une faible occurrence avec des pas de temps définis (3-5ans) choisis sur des secteurs d'intérêt. Il est en effet convenu d'utiliser l'ADNe comme outil de veille sur la présence de ces espèces particulières (Cavalli 2003, Dougherty 2016, Cai 2017).

De part ces caractéristiques, nous pouvons donc promouvoir ou valoriser la mise en place du protocole ADNe sur d'autres milieux denses, difficiles d'accès ou encore là où la conductivité est très élevée (ce qui ne permet pas d'échantillonnage à l'électricité). Celle-ci fut en effet très pertinente sur le Marais Audomarois et peut vraisemblablement l'être également sur une typologie de milieu identique (contexte de marais doux endigués).

Conclusion

En conclusion, le déploiement de la méthode ADNe, nous a offert un bon retour d'expérience sur l'utilisation de cette technique novatrice. Elle nous a également semblé pertinente dans le cadre de l'étude du marais Audomarois, un milieu complexe à échantillonner de par sa typologie. L'utilisation de l'ADNe peut ainsi prendre tout son sens dans l'étude de vastes hydrosystèmes lenticques tel que celui-ci.

C'est de plus un excellent outil de veille environnementale produisant des listes faunistiques sectorisées et très utiles pour la surveillance de certains taxons. En effet, l'ADNe peut être mis au service de la surveillance des espèces exotiques ou des espèces patrimoniales rares.

Dans notre cas, l'utilisation de cette méthode nous a permis de mettre en évidence 29 taxons différents sur le marais dont 10 espèces patrimoniales et plusieurs espèces exotiques. Ce fut notamment le cas avec le Gobie à taches noires qui semble pour le moment uniquement inféodé au Canal à grand gabarit.



Un excellent outil au service de la connaissance dans le marais (production de listes faunistiques mises à jours, apports de données).

- Mise à jour de la liste d'espèce piscicole du marais avec 29 espèces différentes.
- Pas de loche d'étang détectée mais incertitude qui reste en suspens quant à son absence.
- Mise en évidence de 10 espèces patrimoniales dont l'Anguille, le Brochet, la Bouvière et la Loche de rivière sur plusieurs sites.



Un outil de veille environnementale puissant (surveillance des espèces patrimoniales ou exotiques).

- Mise en évidence de plusieurs espèces exotiques comme le Gobie à taches noires sur le Canal ou l'Amour blanc sur la RNN du Romelaëre.
- Détection de Goujon mais uniquement à l'Est du marais.
- Détection de Silure sur le Zieux.



Un outil complémentaire au suivi plan d'eau DCE (RNN Romelaëre). *Vers un outil de veille des marais ou des grandes surfaces lenticques ?*

- Outil complémentaire pertinent des méthodes d'inventaires traditionnels.
- Possibilité de mise en place de ce suivi dans d'autres cadres (étude des grands migrateurs, surveillance des espèces exotiques etc.).
- Très adapté aux grands milieux lenticques.
- Facilité de mise en œuvre, méthode non-intrusive, probabilité de détection plus élevée dans le cas de certains taxons difficilement échantillonnables.
- Le compartiment piscicole est fréquemment méconnu, l'ADNe est un bon moyen de le mettre en avant plus simplement.



Retour d'expérience sur la méthode (dans un milieu lenticque, poldérisé, turbide et de grande surface), *des limites à prendre en compte :*

- Mais pas encore d'analyse des peuplements, de leurs états sanitaires, des classes de tailles des différents taxons, du sexe-ratio, etc.
- Certaines espèces ne peuvent pas encore être distinguées car trop proches génétiquement (Ide mélanote-Vandoise).
- Capacité d'analyse.

En définitive, il s'agit d'un excellent outil au service de la connaissance dans le marais (production de listes faunistiques mises à jours, apports de données conséquentes).

Bibliographie

BACK P. ET KLEINPRINTZ G., 2018. Approfondir la connaissance de la biodiversité piscicole à l'aide d'un outil innovant : l'ADN environnemental. FDAAPPMA59.

CAI W., MA Z., YANG C., WANG L., WANG W., ZHAO G., ... YU D. W. (2017). Using eDNA to detect the distribution and density of invasive crayfish in the Honghe-Hani rice terrace world heritage site. PLoS ONE, 12, e0177724.

CAVALLI L., PECH N., & CHAPPAZ R. (2003). Diet and growth of the endangered Zingel asper in the Durance River. Journal of Fish Biology, 63, 460-471.

CIVADE R., DEJEAN T., VALENTINI A., ROSET N., RAYMOND J-C, BONIN A, ET AL. (2016) Spatial Representativeness of Environmental DNA Metabarcoding Signal for Fish Biodiversity Assessment in a Natural Freshwater System. PLoS ONE 11(6): e0157366. doi:10.1371/journal.pone.0157366

CIVADE R., DEJEAN T., VALENTINI A., ROSET N., 2016. Spatial representativeness of environmental DNA metabarcoding signal for fish biodiversity assessment in a natural freshwater system.

DEJEAN T, VALENTINI A, DUPARC A, PELLIER-CUIT S, POMPANON F, ET AL. (2011) Persistence of Environmental DNA in Freshwater Ecosystems. PLoS ONE 6(8):e23398. doi:10.1371/journal.pone.0023398

DEJEAN T, VALENTINI A, DUPARC A, PELLIER-CUIT S, POMPANON F, TABERLET P, ET AL., 2011 Persistence of Environmental DNA in Freshwater Ecosystems. PLoS ONE 6(8): e23398

DEJEAN T., VALENTINI A., MIQUEL C., TABERLET P., BELLEMAIN E., MIAUD C., 2012. Improved detection of an alien invasive species through environmental DNA barcoding : the example of the American bullfrog *Lithobates catesbeianus*. Journal of Applied Ecology, 49:953-959.

FDAAPPMA62 2016. Diagnostic piscicole et mésologique des entités hydrauliques de la RNN du Romelaère, 28p,

DOUGHERTY M. M., LARSON E. R., RENSHAW M. A., GANTZ C. A., EGAN S. P., ERICKSON D. M., ... FRID C. (2016). Environmental DNA (eDNA) detects the invasive rusty crayfish *Orconectes rusticus* at low abundances. Journal of Applied Ecology, 53, 722–732.

DUDGEON D., ARTHINGTON A., GESSNER M., KAWABATA Z., KNOWLER D., LEVEQUE C., NAIMAN R., PRIEUR-RICHARD A., SOTO D., STIASSNY M., SULLIVAN C., 2006. Freshwater biodiversity : importance, threats, status and conservation challenges. Biological Reviews, 81:163-182.

FICETOLA G.F., MIAUD C., POMPANON F., TABERLET P., 2008. Species detection using environmental DNA from water samples. Biology Letters, 4:423-425.

GOLDBERG C.S., SEPULVEDA A., RAY A., BAUGMARDT J., WAITS L.P., 2013. Environmental DNA as a new method for early detection of New Zealand mudsnails (*Potamopyrgus antipodarum*). Freshwater Science, 32:792-800.

KEITH P., ALLARDI J. & MOUTOU B., 1992. Livre rouge des espèces menacées de poissons d'eau douce de France et bilan des introductions. Coll. Patrimoines Naturels, Vol. 10, SFF/MNHN, CSP, CEMAGREF, Min. Env., Paris : 111 pp.

KLEINPRINTZ G. & BACK P. (2018). Approfondir la connaissance de la biodiversité piscicole à l'aide d'un outil innovant : l'ADN environnemental, FDAAPPMA59, 81p.

LEFRANÇOIS E., APOTHELOZ L., BLANCHER P., BOTREAU S., CHARDON C., CREPIN L., CORDIER T., CORDONIERA., DOMAIZON I., FERRARI B.J.D., GUEGUEN J., HUSTACHE J.C., JACAS L., JACQUET S., LACROIX S., MAZENQ A.L., PAWLOWSKA A., PERNEY P., PAWLOWSKI J., RIMET F., RUBIN J.F., TREVISAN D., VIVIEN R., BOUCHEZ A. (2018) Development and implementation of eco-genomic tools for aquatic ecosystem biomonitoring: the SYNAQUA French-Swiss program. ESPR DOI:10.1007/s11356-018-2172-2

MC NEELY J.A. (ED). 2001. The Great reshuffling : human Dimensions of invasive Alien Species. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.VI+242p.

P.JEAN, 2013. La détection des espèces par l'Adn environnemental, 72p.

PONT D., ROCLE M., VALENTINI A., CIVADE R., JEAN P., MAIRE A., ROSET N., SCHABUSS M., ZORNIG H. & DEJEAN T., 2018. Environmental DNA reveals quantitative patterns of fish biodiversity in large rivers despite its downstream transportation, Scientific Reports, 13p.

SIGSGAARDA E., CARL H., RASKMØLLER P., THOMSEN P-F, 2014. Monitoring the near-extinct European weather loach in Denmark based on environmental DNA from water samples. Biological Conservation, Volume 183, March 2015, Pages 46-52.

TABERLET P., COISSAC E., HAJIBABAEI M., RIESEBERG L.H., 2012. Environmental DNA. Molecular Ecology, 21:1789-1793.

TAKAHARA T., MINAMOTO T., YAMANAKA H., DOI H., KAWABATA Z., (2012). Estimation of Fish Biomass Using Environmental DNA Published: April 26, 2012

TREQUIER A., PAILLISSON J-M, DEJEAN T., VALENTINI A., SCHLAEPFER M., ROUSSEL J-M, 2014. Environmental DNA surveillance for invertebrate species : advantages and technical limitations to detect invasive crayfish *Procambarus clarkii* in freshwater ponds. Journal of applied ecology 51, 871-879.

VALENTINI A., TABERLET P., MIAUD C., CIVADE R., HERDER J., THOMSEN P-F., 2015. Next-generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA metabarcoding. Molecular ecology.

Annexes

Résultats globaux des prélèvements d'ADNe dans le Marais Audomarois (2018)

*** : Quantité d'ADN insuffisante pour certifier la détection du taxon dans l'échantillon.

Nom vernaculaire	CODE taxon	Nom scientifique	Base de référence	SPY181931		SPY181937		SPY181955		SPY181941		SPY181943		SPY182443		SPY182448		SPY182441		SPY182444		SPY182442		SPY182445		SPY182446		SPY182447			
				Serques	Vasseliette	Grand large sud	Moerelack	Roemelaer 1	Romelaer 2	Romelaer 3	Houille	Canal 1	Canal 2	Zieux	Landsbergh	Omer															
				Nombre de réplicats parités (HE)	Nombre de réplicats ADN	Nombre de réplicats parités (HE)	Nombre de réplicats ADN	Nombre de réplicats parités (HE)	Nombre de réplicats ADN	Nombre de réplicats parités (HE)	Nombre de réplicats ADN	Nombre de réplicats parités (HE)	Nombre de réplicats ADN	Nombre de réplicats parités (HE)	Nombre de réplicats ADN	Nombre de réplicats parités (HE)	Nombre de réplicats ADN	Nombre de réplicats parités (HE)	Nombre de réplicats ADN	Nombre de réplicats parités (HE)	Nombre de réplicats ADN	Nombre de réplicats parités (HE)	Nombre de réplicats ADN	Nombre de réplicats parités (HE)	Nombre de réplicats ADN	Nombre de réplicats parités (HE)	Nombre de réplicats ADN	Nombre de réplicats parités (HE)			
Brème commune	BRE	<i>Abramis brama</i>	SPYGEN	12	128 829	12	144 331	12	136 076	12	199 660	12	133 061	12	193 028	12	157 613	12	250 803	12	86 689	12	241 305	12	101 313	12	98 569	12	118 132		
Ablette	ABL	<i>Alburnus alburnus</i>	SPYGEN	12	10 820	12	14 796	12	13 559	12	8 139	6	3 662		3	243	12	4 794	11	6 737	12	7 121	12	4 789	12	4 268	12	4 238			
Anguille	ANG	<i>Anguilla anguilla</i>	SPYGEN	10	2 168	11	2 884	9	1 909	11	1 674	5	3 937	8	19 107	9	6 721	12	12 331	12	6 426	12	12 059	11	3 761	11	1 363	12	2 370		
Brème bordelière	BRB	<i>Blicca bjoerkna</i>	SPYGEN									4	22 153	2	20 628																
Carrasin	CAS	<i>Carassius sp.</i>	SPYGEN	2	456	9	1 185	9	578			3	156	5	537	4	1 010	9	1 662					3	148	5	132				
Loche de rivière	LOR	<i>Cobitis taenia</i>	SPYGEN			9	897			3	131											2	554	2	198				7	444	
Chabot	CHA	<i>Cottus sp.</i>	SPYGEN																5	1 842	10	9 847				9	1 339				
Amour blanc/Carpe argentée	CTI	<i>Cyprinidae - Complexe 2</i>	SPYGEN							2	373	5	18 983	1	187																
Carpe commune	CCO	<i>Cyprinus carpio</i>	SPYGEN	4	1 079	10	1 193	6	778	5	352	7	1 301	11	15 988	10	7 658	11	3 035	4	125	8	638	6	654	11	411	5	363		
Brochet	BRO	<i>Esox lucius</i>	SPYGEN	12	8 712	12	17 652	12	11 016	12	9 669	6	7 552	3	14 492	4	7 486	11	12 232			1	285	7	2 548	12	8 423	12	6 015	12	7 247
Epinoche	EPI	<i>Gasterosteus aculeatus</i>	SPYGEN																4	132											
Goujon	GOU	<i>Gobio sp.</i>	SPYGEN			7	665			9	837													3	288			9	845		
Gremille	GRE	<i>Gymnocephalus cernuus</i>	SPYGEN	12	29 198	12	26 808	12	42 593	12	27 587	9	26 040	9	50 528	6	4 138	12	31 126	12	10 724	12	50 490	12	34 246	12	19 290	12	28 830		
Lamproie	LPR/LP	<i>Lampetra sp.</i>	SPYGEN																			5	527								
Able de Heckel	ABH	<i>Leucaspis delineatus</i>	SPYGEN			3	650																	3	154	5	122				
Ida Melanote	IDE	<i>Leuciscus sp.</i>	SPYGEN																									9	516		
Gobie à taches noires	GTN	<i>Neogobius melanostomus</i>	SPYGEN																		9	3 241	10	3 676							
Truite arc-en-ciel	TAC	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	SPYGEN							2	698							2	1 311	12	15 827	12	31 234						12	5 425	
Perche fluviatile	PER	<i>Percia fluviatilis</i>	SPYGEN	12	41 555	12	35 124	12	40 663	12	37 643	7	10 156	3	9 154	3	3 276	12	47 116	3	10 788	12	26 314	12	29 053	12	23 063	12	34 708		
Flet	FLE	<i>Platichthys flesus</i>	GenBank																1	683	5	4 453									
Bouvière	BOU	<i>Rhodeus amarus</i>	SPYGEN			10	1 221	2	422	10	2 134							7	2 133				8	1 369				12	1 396		
Gardon	GAR	<i>Rutilus rutilus</i>	SPYGEN	12	90 522	12	77 988	12	83 513	12	68 118	12	28 155	9	33 648	5	6 979	12	76 752	12	16 968	12	51 792	12	40 408	12	69 857	12	70 369		
Saumon	SAT	<i>Salmo salar</i>	SPYGEN															2	830												
Truite Fario	TRF	<i>Salmo trutta</i>	SPYGEN																		7	4 749	10	6 713					3	256	
Ombre	OBR	<i>Thymallus thymallus</i>	SPYGEN																		2	4 050	6	3 311					7	1 054	
Sandre	SAN	<i>Sander lucioperca</i>	SPYGEN	10	6 818	12	2 384	9	1 472	12	6 295	7	8 863	3	7 448	11	12 344	12	13 853	12	12 899	12	26 374	12	6 654	12	3 175	12	6 326		
Rotengle	ROT	<i>Scardinus erythrophthalmus</i>	SPYGEN	12	15 422	12	26 644	12	15 553	12	25 209	12	30 453	10	45 788	8	6 014	12	14 646	10	3 019	10	2 581	12	13 947	12	4 468	12	5 473		
Silure	SIL	<i>Silurus glanis</i>	SPYGEN																					2	134						
Tanche	TAN	<i>Tinca tinca</i>	SPYGEN	12	10 820	12	9 348	12	4 421	12	9 139	9	11 643	1	2 246	7	5 558	12	11 681	3	247	6	786	12	5 518	12	2 784	12	4 958		



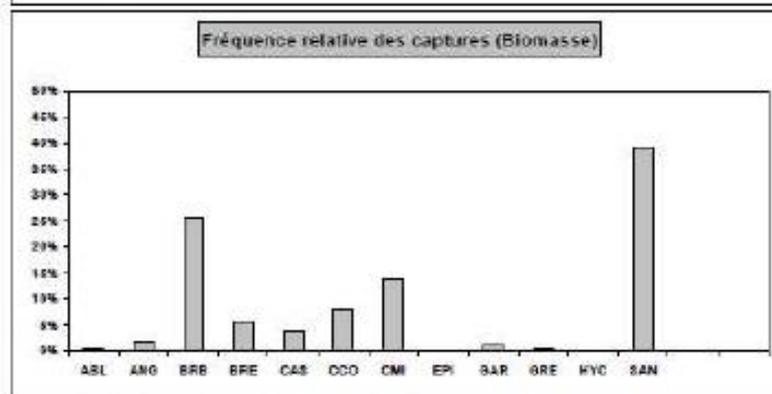
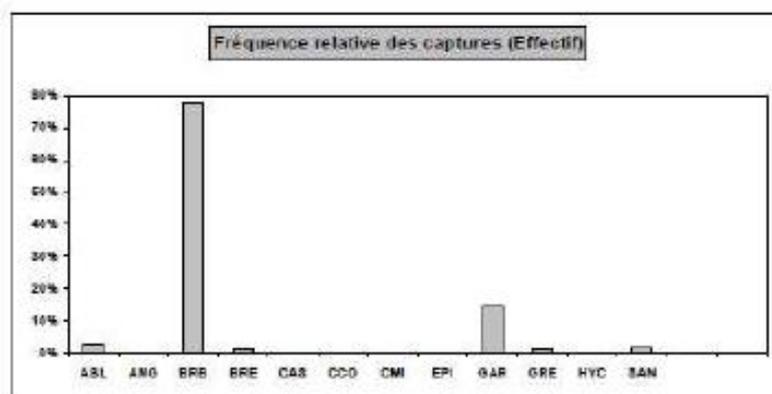
Le plan d'eau du Romelaëre
Claimarais (62)

Objectif : Réseau DCE

Protocole : CEN

Date : du 28/09/2009 au 20/09/2009

		ANALYSE DES CAPTURES (Données brutes)					
		Nb. filets benthiques : 8			Surface benthique : 360 m ²		
Espèce		Effectif total	CPUC (Nb. Ind./filet)	Rendement (Nb./1000m ²)	Poids total (g)	CPUC (poids/filet)	Rendement (poids/1000m ²)
Ablette	ABL	21	2,63	58,3	127	15,88	352,8
Anguille	ANG	2	0,25	5,6	699	97,38	1941,7
Brème bordelière	BRB	699	74,88	1663,9	9689	1236,13	27469,4
Brème commune	BRE	9	1,13	25,0	2122	265,25	5694,4
Carassin	CAS	1	0,13	2,8	1501	187,63	4165,4
Carpe commune	CCO	1	0,13	2,8	3145	393,13	8700,1
Carpe miroir	CMi	1	0,13	2,8	5318	664,58	14753,9
Épinoche	EPI	1	0,13	2,8	1	0,13	2,8
Gardon	GAR	113	14,13	313,9	495	61,13	1291,7
Grémille	GRE	8	1,00	22,2	112	14,00	311,1
Hybride cyprinidae	HYC	2	0,25	5,6	11	1,38	30,6
Sandre	SAN	14	1,75	38,9	15051	1882,63	41836,1
Nb. d'espèces : 13		773	82,17	716,8	58418	5631,96	12626,0



ONEMA - Délégation interrégionale Nord-Ouest - 2 rue de Strasbourg - 60200 COMPIÈGNE

1 - RESULTATS

1-1 Liste des espèces prélevées.

Nom français	Nom scientifique	Famille	Abréviation
Ablette	<i>Alburnus alburnus</i>	CYPRINIDES	ABL
Anguille	<i>Anguilla anguilla</i>	ANGUILLIDES	ANG
Bouvière	<i>Rhodeus sericeus</i>	CYPRINIDES	BOU
Brème bordelière	<i>Blicca bjoerkna</i>	CYPRINIDES	BRB
Brème commune	<i>Abramis brama</i>	CYPRINIDES	BRE
Brochet	<i>Esox lucius</i>	ESOCIDES	BRO
Carassin	<i>Carassius carassius</i>	CYPRINIDES	CAS
Carpe commune	<i>Cyprinus carpio</i>	CYPRINIDES	CCO
Epinoche	<i>Gasterosteus aculeatus</i>	GASTERO- -STEIDES	EPI
Gardon	<i>Rutilus rutilus</i>	CYPRINIDES	GAR
Goujon	<i>Gobio gobio</i>	CYPRINIDES	GOU
Grémille	<i>Gymnocephalus cernua</i>	PERCIDES	GRE
Perche	<i>Perca fluviatilis</i>	PERCIDES	PER
Rotengle	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	CYPRINIDES	ROT
Sandre	<i>Lucioperca lucioperca</i>	PERCIDES	SAN
Tanche	<i>Tinca tinca</i>	CYPRINIDES	TAN

Liste, effectifs et tailles des espèces inventoriées sur les 75 EPA - RNN du Romelaère en 2016.

Nom vernaculaire	Nom scientifique	Code taxon	Effectif	Effectif moyen /EPA	Taille max (mm)	Taille moyenne (mm)	Taille min (mm)
Ablette	<i>Alburnus alburnus</i>	ABL	27	0.36	137	113	48
Anguille	<i>Anguilla anguilla</i>	ANG	20	0.27	500	374	240
Bouvière	<i>Rhodeus sericeus</i>	BOU	2	0.03	66	52	39
Brème bordelière	<i>Blicca bjoerkna</i>	BRB	50	0.67	207	116	62
Brème commune	<i>Abramis brama</i>	BRE	37	0.49	509	112	39
Brochet	<i>Esox Lucius</i>	BRO	1	0.01	456	456	456
Carassin commun	<i>Carassius carassius</i>	CAS	1	0.01	360	360	360
Carpe commune	<i>Cyprinus carpio</i>	CCO	1	0.06	500	500	500
Carpe miroir	<i>Cyprinus carpio</i>	CMI	1	0.06	750	750	750
Cyprinidé (forme juvénile mal identifié)		CYP (Ind)	1	0.01	20	20	20
Gardon	<i>Rutilus rutilus</i>	GAR	150	2.00	162	84	36
Goujon	<i>Gobio gobio</i>	GOU	2	0.03	100	99	99
Grémille	<i>Gymnocephalus cernua</i>	GRE	8	0.11	78	63	53
Perche	<i>Perca fluviatilis</i>	PER	22	0.29	84	73	64
Rotengle	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	ROT	19	0.25	300	95	43
Sandre	<i>Stizostedion lucioperca</i>	SAN	4	0.05	136	107	95
Tanche	<i>Tinca tinca</i>	TAN	2	0.03	458	431	405
Nombre d'espèce : 16		Effectif total : 348		Nbre moyen d'ind./EPA : 4.64			