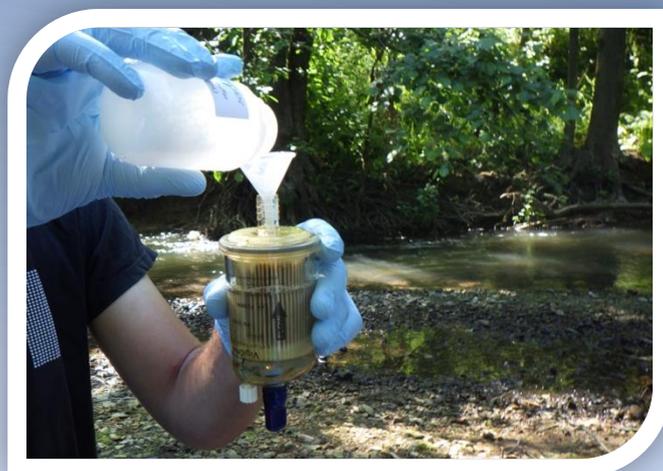
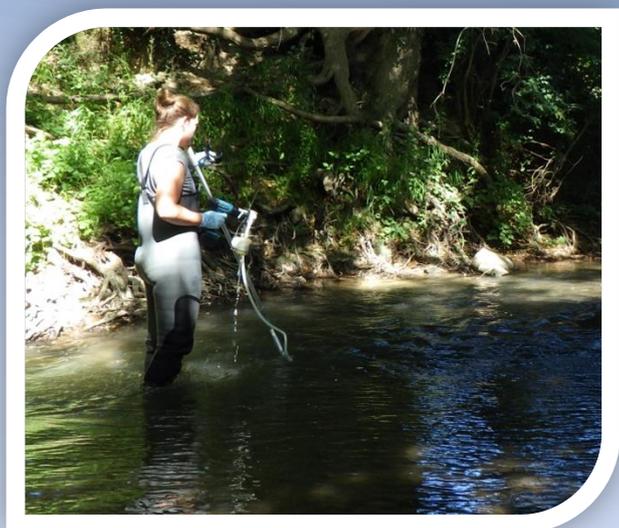




Analyse de l'ADN environnemental

- Contexte Liane -

Inventaire piscicole et détection de l'écrevisse à pattes blanches
(*Austropotamobius pallipes*)



SPYGEN®



AGENCE DE L'EAU
ARTOIS-PICARDIE
www.eau-artois-picardie.fr

Sommaire

Sommaire	1
Table des illustrations.....	2
I. Introduction.....	3
II. Présentation du contexte et enjeux	4
II.1. Le contexte Liane	4
II.2. Les objectifs.....	5
II.3. Les principales espèces à enjeux.....	6
II.3.1. Les grands migrateurs	6
II.3.2. L'écrevisse à pattes blanche	9
III. Matériel et méthode	10
III.1. Eléments de définitions.....	10
III.2. Protocole d'échantillonnage ADNe	11
III.3. Sites de prélèvements.....	11
IV. Résultats.....	14
IV.1. Approche multi-spécifiques sur le compartiment ichtyologique.....	15
IV.1.1. Vue d'ensemble sur le bassin versant de la Liane.....	15
IV.1.2. Analyse stationnelle	18
IV.1.3. Evolution longitudinale	29
IV.2. Approche mono-spécifique sur l'écrevisse à pattes blanches	32
V. Discussion & Perspectives	33
VI. Conclusion	38
VII. Bibliographie & webographie	39
VIII. Annexes.....	41

Table des illustrations

Figure 1 : Localisation du site d'étude.....	4
Figure 2 : Photographie d'une truite de mer échantillonnée dans la Canche en 2015.....	6
Figure 3 : Photographie d'une anguille européenne.....	7
Figure 4 : Photographies d'une Lamproie marine (à gauche) et de Lamproies fluviatiles (à droite)	8
Figure 5 : Photographie d' <i>Austropotamobius pallipes</i> (©David Gerke).....	9
Figure 6 : Répartition de l'écrevisse à pattes blanches en France en 2014. Source : ONEMA.....	9
Figure 7 : Schéma explicatif de l'analyse de l'ADNe ©Spygen	10
Figure 8 : Localisation des points de prélèvements	12
Figure 9 : Planche photographique des 12 stations de prélèvements sur la Liane et ses affluents	13
Figure 10 : Résultats de la station Liane-1	18
Figure 11 : Résultats de la station Liane-2	19
Figure 12 : Résultats de la station Liane-3	20
Figure 13 : Résultats de la station Liane-4	21
Figure 14 : Résultats de la station Liane-5	22
Figure 15 : Résultats de la station Liane-6	23
Figure 16 : Résultats de la station Liane-7	24
Figure 17 : Résultats de la station Liane-8	25
Figure 18 : Résultats de la station Liane-9	26
Figure 19 : Résultats de la station Liane-10	27
Figure 20 : Résultats de la station Liane-11	28
Figure 21 : Résultats de la station Liane-12	28
Figure 22 : Représentation cartographique schématique des listes de taxons obtenues à l'aide de l'ADNe par station.	29
Figure 23 : Abondance relative du nombre de séquence ADN de chaque espèce détectée, pour l'ensemble des stations.....	31
Figure 24 : Nombre de séquence d'ADN a. : d'Anguille (<i>Anguilla anguilla</i>) ; b. : de Lamproie de rivière et de Planer (<i>Lampetra sp</i>) ; c. : de Truite fario ou Truite de mer (<i>Salmo trutta</i>)	32
Figure 25 : Résultats de l'analyse mono-spécifique sur l'écrevisse à pattes blanches.....	32
Figure 26 : Représentation cartographique schématique des listes de taxons obtenues à l'aide de l'ADNe par station, et par pêche électrique sur les stations à proximité.....	33
Figure 27 : CPUE (Nombre d'Anguille par point) pour les 4 stations de l'axe Liane échantillonnée dans le cadre du Réseau de Suivi Anguille lors des différentes campagnes	34
Figure 28 : Localisation des frayères à lamproie fluviatile et à truite de mer recensées de 2017 à 2019 sur la Liane.....	35
Figure 29 : Capture de la vidéo du passage d'une lamproie marine au riverwatcher de Mourlinghen sur la Liane, le 13 juin 2020.....	36
Figure 30 : Temps théorique et effectif d'ouverture journalier des vannes de l'ouvrage Marguet pour l'année 2020	36
Tableau 1 : Récapitulatif des mesures de gestion du PLAGEPOMI dans lesquels s'inscrit cette étude	6
Tableau 2 : Sites de prélèvements	12
Tableau 3 : Limites d'identification de certains taxons.....	14
Tableau 4 : Liste des espèces piscicoles détectées par l'ADNe sur le bassin de la Liane	16
Tableau 5 : Tendances globales de la population piscicole de la Liane et ses affluents obtenues via l'ADNe	16
Tableau 6 : Listes des espèces patrimoniales détectées sur la Liane et leurs statuts de conservation	17
Tableau 7 : Récapitulatif des taxons détectés par station	30

I. Introduction

La Liane, cours d'eau côtier majeur du bassin Artois-Picardie, s'écoule dans sa totalité dans le Département du Pas-de-Calais. Elle est fréquentée par plusieurs espèces de poissons amphihalins, qui ont besoin de pouvoir migrer entre la manche et l'amont du bassin de la Liane afin de réaliser l'ensemble de leur cycle biologique.

Ces déplacements sont souvent rendus difficiles voire impossibles, par les obstacles à la migration en travers des cours d'eau et des canaux (barrages, seuils, écluses de navigation...). Ces dernières années et notamment depuis 2015, conformément à l'article L214.17 Alinéa 2 du Code de l'environnement, d'importants aménagements ont été réalisés sur le bassin de la Liane en faveur de la continuité écologique. L'arasement d'ouvrages et la création de dispositifs de franchissement ont permis de restaurer la libre circulation piscicole et le transit sédimentaire.

Afin d'apprécier l'efficacité des travaux de rétablissement de la continuité écologique, mais aussi dans un souci d'amélioration de la connaissance, conformément au PDPG (Plan Départemental pour la Protection des milieux aquatiques et la Gestion des ressources piscicoles du Pas-de-Calais, 2018-2022) et au PLAGEPOMI (Plan de Gestion des Poissons Migrateurs du bassin Artois-Picardie, 2015-2021), plusieurs suivis biologiques complémentaires concernant les espèces migratrices amphihalines ont déjà été mis en place : réseau de suivi par pêche électrique, études télémétriques, stations de comptage, suivis des frayères...

C'est dans ce cadre qu'est intervenue la Fédération de Pêche du Pas-de-Calais en juin 2020, avec la réalisation d'un inventaire piscicole sur le bassin de la Liane via le déploiement de l'analyse de l'ADN environnemental. Cette méthode a été sélectionnée pour son approche non intrusive, rapide, nécessitant uniquement un prélèvement d'eau, et relativement exhaustive pour un linéaire échantillonné.

En effet lors de la mise en place d'inventaires piscicoles traditionnels par pêche à l'électricité, des interrogations peuvent rester en suspens quant à la détection de certaines espèces cibles plus difficiles à échantillonner que d'autres (notamment les ammocètes de Lamproies) à cause de leurs bio-écologies singulières, la difficulté d'accès des sites qu'elles occupent ou leurs effectifs réduits. L'étude de l'ADN environnementale peut permettre de palier à ces biais (Taberlet et al., 2012, Jean, 2013). De nombreux retours d'expériences prometteurs existent sur la faune aquatique : poissons, amphibiens, mammifères aquatiques, mollusques et certains crustacés (Ficetola et al. 2008, Pawlowski et al., 2020; Poulet et Basilico, 2019).

La présente étude réalisée en partenariat avec le laboratoire SpyGen situé à Le Bourget du Lac (73375) permettra d'acquérir des données biologiques importantes, notamment au niveau de la localisation des espèces migratrices. Cela permettra d'apprécier le gain écologique induit par les travaux de restauration de la continuité écologique, mais également de pouvoir orienter les futures prospections de frayères. Ces données pourront également mettre en évidence l'éventuelle présence des Aloses (Grande Alose et Alose feinte), mais également de l'Ecrevisse à pattes blanches (*Austropotamobius pallipes*), espèce autochtone protégée dont la présence sur le bassin versant n'est actuellement pas connue.

II. Présentation du contexte et des enjeux

II.1. Le contexte Liane

La Liane est un cours d'eau côtier majeur du bassin Artois-Picardie qui s'écoule dans sa totalité dans le Département du Pas-de-Calais (Figure 1). D'une longueur de 40km, le cours d'eau prend sa source à Quesques et se jette dans la Manche au niveau de la commune de Boulogne-sur-Mer.

L'étendue de la surface drainée par son bassin versant (244 km²) et ses nombreux tributaires en font une rivière typique du Boulonnais, très réactive après chaque épisode de précipitation. En effet, la Liane s'écoule sur un substrat peu perméable et présente des fluctuations de débit très marquées, à l'inverse de la plupart des cours d'eau du Pas-de-Calais. Son débit moyen est seulement de 1,85 m³/s à Wirwignes, mais son régime hydrologique se caractérise par des débits de crue très importants.

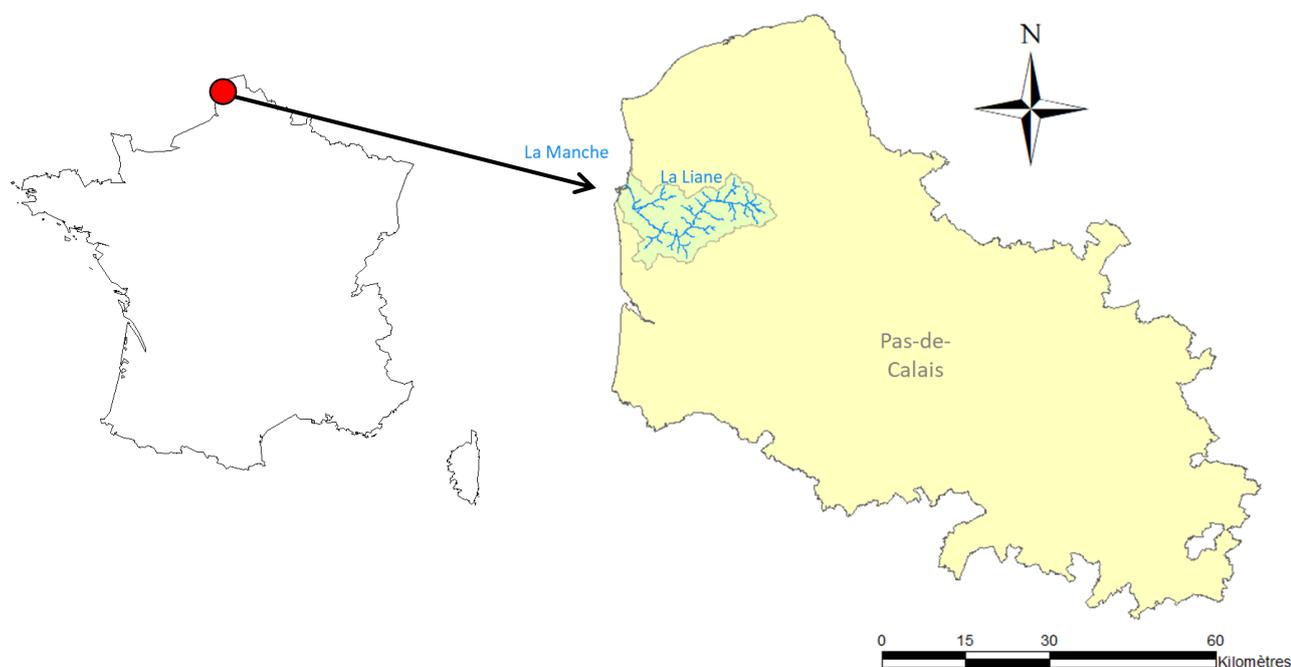


Figure 1 : Localisation du site d'étude

Le calcul du NTT (Niveau Typologique Théorique ; Verneaux, 1977) classe la partie aval de la Liane en zone à Barbeaux, la partie médiane en zone à Ombres, et la partie amont en zone à Truites (Atlas cartographique du PDPG 2.0 – Carte n°2).

La Liane est fréquentée par de nombreuses espèces piscicoles typiques des milieux à courants vifs : la truite fario (*Salmo trutta fario*), le chabot commun (*Cottus gobio*), le vairon commun (*Phoxinus phoxinus*), la lamproie de Planer (*Lampetra planeri*) ... ; mais également par plusieurs espèces migratrices dont l'anguille européenne (*Anguilla anguilla*) et les lamproies marines (*Petromyzon marinus*) et fluviatiles (*Lampetra fluviatilis*). La truite de mer (*Salmo trutta trutta*) est, elle aussi, bien

présente sur le bassin. Le saumon Atlantique (*Salmo salar*) quant à lui n'a jamais été observé, et est historiquement absent du contexte.

Le bassin de la Liane est fréquenté par de nombreuses espèces piscicoles typiques des milieux à courants vifs (Truite fario (*Salmo trutta fario*), Chabot commun (*Cottus gobio*), Vairon commun (*Phoxinus phoxinus*), Lamproie de Planer (*Lampetra planeri*)...). Ce fleuve côtier est également fréquenté par plusieurs espèces migratrices dont l'Anguille européenne (*Anguilla anguilla*), la Lamproie fluviatile (*Lampetra fluviatilis*) et la Lamproie marine (*Petromyzon marinus*). La Truite de mer (*Salmo trutta trutta*) est également bien présente sur le bassin. Elle était d'ailleurs historiquement étudiée dans la Liane par les biologistes de la station marine de Wimereux, au XIX^{ème} siècle.

Ces espèces restent dépendantes des possibilités de migration entre la Manche et l'amont du bassin de la Liane, pour réaliser l'ensemble de leur cycle biologique. Cette continuité écologique est souvent rendue difficile, voire impossible, par les obstacles à la migration (barrages et seuils). Des aménagements ont été réalisés ces dernières années, afin de restaurer la continuité écologique sur le bassin de la Liane, notamment au niveau du barrage estuarien de Marguet et du barrage de Mourlinghen.

L'ouvrage de Marguet situé dans le port de Boulogne-sur-Mer permet le maintien d'un plan d'eau en amont, servant de port de plaisance. Les vannes de l'ouvrage étaient constamment fermées, hors crues, jusqu'en 2015, et la circulation piscicole n'était alors possible que lors du passage d'un bateau. Suite à la rénovation des vannes « Est » et « Centrale » en 2015, et à une gestion automatique de ces dernières, une ré-estuarisation partielle de la Liane est permise et assure ainsi la libre circulation piscicole à chaque cycle de marée.

L'ouvrage de Mourlinghen d'un dénivelé d'environ 2,8 et situé à 12 km en amont de l'ouvrage de Marguet est équipé d'une vanne clapet qui permet de maintenir dans le bief amont un niveau d'eau suffisant pour assurer le fonctionnement d'une prise d'eau alimentant une usine de production d'eau potable. Il a été équipé en 2016 d'un bras de contournement de 54 m de long (composé de pré-seuils à faible chute) permettant la libre circulation piscicole.

Le seuil du moulin de Questrecques (ROE 38852) situé approximativement à 19 km du trait de côte, constitue actuellement le front de migration des agnathes migrateurs (Lamproies fluviatile et marine)

Ce barrage ne représente pas un obstacle strictement infranchissable pour les autres espèces migratrices (notamment pour les truites de mer), cependant il peut engendrer un retard de migration significatif pouvant impacter l'efficacité de la reproduction. Il fera l'objet en 2021 d'un aménagement porté en maîtrise d'ouvrage par le Symsageb (Syndicat Mixte du Sage du Boulonnais) afin de rétablir la libre circulation piscicole. Cette intervention permettra de décroisonner l'axe Liane jusqu'au seuil de la brique ferme (ROE28822) situé sur la commune de Selles, augmentant alors de près de 15 km le linéaire colonisable par les migrateurs.

II.2. Les objectifs

L'inventaire des populations piscicoles du contexte Liane va permettre d'améliorer les connaissances sur les populations et d'apprécier le gain écologique induit par les récents travaux de restauration de

la continuité écologique. Cette étude s'inscrit alors dans les objectifs du PLAGEPOMI (Tableau 1). Par ailleurs, suite à des signalements récents de présence de l'écrevisse à pattes blanches (*Austropotamobius pallipes*) dans le département, la recherche de celle-ci en amont du contexte, permettra d'orienter les investigations futures dans le cadre du réseau écrevisse de l'OFB.

Tableau 1 : Récapitulatif des mesures de gestion du PLAGEPOMI dans lesquels s'inscrit cette étude

Mesures de gestion du PLAGEPOMI	
Protection et restauration des habitats	M5 : Evaluer les aménagements
Amélioration des connaissances et suivi des populations de poissons migrateurs	C4 : Suivre l'efficacité des travaux de restauration et communiquer les résultats
	S2 : Favoriser le suivi de l'évolution de l'aire de répartition des saumons et truites de mer par le suivi des nids de ponte et frayères
	AL1 : Continuer le suivi des nids de ponte sur les secteurs de présence de la lamproie et améliorer la connaissance générale sur les lamproies.
	AL3 : Identifier des zones de reproduction potentielles des aloses

II.3. Les principales espèces à enjeux

II.3.1. Les grands migrateurs

► La Truite de mer

La Truite de mer (*Salmo trutta trutta*) est un salmonidé migrateur potamotoque. Il s'agit de la même espèce que la Truite fario (*Salmo trutta fario*), mais c'est un écotype qui migre en mer pour effectuer sa phase de grossissement. Après une ou deux années en rivière, les jeunes truites de mer vont connaître des changements physiologiques (smoltification) d'adaptation à la vie marine et vont dévaler les cours d'eau à partir d'avril jusqu'au mois de mai.



Figure 2 : Photographie d'une truite de mer échantillonnée dans la Canche en 2015

La seconde phase du cycle de la truite de mer va alors se dérouler en mer. Cependant, les truites de mer vont rester sur le plateau continental à proximité des zones côtières, en Manche et Mer du Nord, pour une durée allant de quelques mois à plus de deux ans. Les adultes vont ensuite revenir en eau douce pour se reproduire, principalement dans la rivière d'où ils sont partis, mais ce comportement de homing ne semble pas systématique. A l'issue de la fraie, une partie des géniteurs survit à la reproduction et redescend en mer. Les géniteurs sont ensuite capables de revenir tous les ans se reproduire en eau douce (jusqu'à 7 fois).

► L'Anguille Européenne

L'anguille européenne (*Anguilla anguilla*) est le seul grand migrateur thalassotoque européen et présente une large distribution géographique. Opportuniste et ubiquiste, l'anguille est capable de s'adapter à tous les types d'habitats accessibles. Son cycle de vie unique est encore mystérieux sur de nombreux points. Après une vie en eau douce, elle rejoindrait la mer des Sargasses pour effectuer son unique reproduction (espèce semelpare).

A l'éclosion, les larves leptocéphales (en forme de feuille de saule) sont portées par les courants océaniques (Gulf-Stream) de manière passive jusqu'à l'approche du plateau continental. Les leptocéphales se métamorphosent alors en civelles : leur corps s'allonge et devient cylindrique, et elles entament une migration portée puis nagée dans les estuaires.

Les civelles vont alors progressivement se pigmenter jusqu'à atteindre le stade Anguillette durant lequel elles poursuivent leur migration vers l'amont en colonisant les hydrosystèmes continentaux accessibles. S'ensuit le stade Anguille jaune, phase de croissance essentiellement sédentaire jusqu'à leur maturation sexuelle. Cette phase varie de 4 à 20 ans pour les femelles et 2 à 15 ans pour les mâles.

Au terme de sa période continentale, l'Anguille subit une dernière métamorphose pour atteindre le stade Anguille argentée. Des changements physiologiques (changement de couleur, augmentation de la taille des yeux, de la taille des nageoires pectorales et de l'épaisseur de la peau...) préparent l'Anguille à son retour vers la mer des Sargasses. La dévalaison des anguilles débute généralement à l'automne et se poursuit jusqu'au début du printemps.



Figure 3 : Photographie d'une anguille européenne

► La Lamproie marine

La Lamproie marine (*Petromyzon marinus*) n'est pas un poisson mais un agnathe, c'est-à-dire qu'elle ne possède pas de mâchoire articulée mais un disque buccale adapté à la succion. Leur corps est cylindrique, et elle peut atteindre une taille de 60cm à 1,2m.

Il s'agit de migrateurs amphihalins potamotoques qui réalisent leur migration anadrome de reproduction entre les mois de mai et juillet. Les géniteurs ne survivent pas à la reproduction. Les juvéniles appelés ammocètes vont rester abrités dans des lits sablo-limoneux pendant 3 à 8 ans, avant de dévaler en mer. Ils séjourneront entre 1 et 2 ans en mer pour leur phase de grossissement en parasitant certaines espèces de poisson, avant de remonter les cours d'eau, en avril/juin, pour se reproduire à leur tour.

► La Lamproie fluviatile

La lamproie fluviatile (*Lampetra fluviatilis*) se distingue de la lamproie marine par une taille réduite (environ 40 cm au stade adulte) et une coloration plus terne. C'est également un migrateur

potamotocque dont la migration de montaison est plus étalée et s'effectue de l'automne au printemps. La reproduction s'effectue entre fin mars et début mai. Tout comme la Lamproie marine, les géniteurs meurent après la reproduction, et les ammocètes vont rester entre 3 et 7 ans en eau douce avant leur dévalaison en mer. A la différence de la Lamproie marine, la migration marine va se dérouler à proximité des côtes (moins de 20 km) et à une profondeur de moins de 50 m.



Figure 4 : Photographies d'une Lamproie marine (à gauche) et de Lamproies fluviatiles (à droite)

► Les Aloses : alose feinte et grande alose

La Grande alose (*Alosa alosa*) et l'Alose feinte (*Alosa fallax*) ont des traits de vie similaires, mais se différencient notamment par leur taille, la seconde étant plus petite. Leur activité de migration et de reproduction est fortement dépendante de la température de l'eau : la migration s'effectue sur une plage de 10 à 15°C et la reproduction alentours de 17°C. Le frai nocturne des aloses occasionne des émissions sonores et mouvements spécifiques à la surface de l'eau appelés « bulls ». Les aloses se caractérisent par une inaptitude au saut, ce qui les rend très vulnérable à la présence d'obstacles.

La 1ère phase de la vie de la grande alose se déroule en eau douce où les juvéniles (alosos) passent 2 à 3 mois avant de dévaler les cours d'eau à la fin d'été et en automne. La 2ème phase de son cycle de vie se déroule en mer : elles restent sur le littoral pendant les deux premières années de leur vie puis s'éloignent et peuvent atteindre des profondeurs jusqu'à 300 mètres. La phase de grossissement peut durer de 3 à 7 ans, avec une maturation sexuelle plus longue chez la femelle. Les adultes reviennent en eau douce pour se reproduire, généralement dans le cours d'eau où ils sont nés et remontent plus haut dans le réseau hydrographique que l'aloise feinte. Les géniteurs ne survivent généralement pas au frai.

Le cycle biologique de l'aloise feinte est relativement similaire à la différence que la dévalaison en mer des juvéniles va s'effectuer dès le début de l'été, après 1 à 2 mois de vie en eau douce, et que la migration marine va s'effectuer à proximité des zones côtières à moins de 20 mètres de profondeur. La phase de grossissement dure également de 3 à 7 ans, avec une maturation sexuelle plus longue chez la femelle. Les adultes reviennent en eau douce pour se reproduire, mais restent dans les parties basses des cours d'eau voire dans les estuaires. Les géniteurs peuvent se reproduire jusqu'à 5 fois.

La présence de ces deux espèces n'est pas connue sur le bassin de la Liane, cependant leur présence est avérée sur le littoral à proximité de l'estuaire. Les conditions de débit et de température

nécessaires à la migration et au frai des aloses peuvent être des freins à la colonisation de la Liane, cependant les évolutions en contexte de changement climatique pourront s'avérer profitables pour la colonisation du bassin dans les années à venir.

II.3.2. L'écrevisse à pattes blanche

L'écrevisse à pattes blanches ou pieds blancs (*Austropotamobius pallipes*) est un crustacé décapode de la famille des Astacidés. C'est une espèce autochtone européenne principalement présente en Europe de l'Ouest. Elle est inscrite sur la liste des espèces protégées en France (articles L411-1 et 2 du Code de Environnement) et est classée « vulnérable » par l'UICN (UICN, 2014).



Figure 5 : Photographie d'*Austropotamobius pallipes* (©David Gerke)

Historiquement présente partout et en abondance en France, c'est une espèce qui a énormément régressé, et ses populations sont désormais très fragmentées et isolées, bien qu'elle reste l'écrevisse native la plus représentée à l'échelle du pays. Les principales causes de ce déclin sont la détérioration de son habitat, et la présence d'espèces d'écrevisses invasives. L'impact de ces dernières peut être lié à la compétition directe, par prédation ou occupation de l'habitat, mais également par la transmission de la peste de l'écrevisse (Aphanomycose), dont les écrevisses allochtones (l'Écrevisse de Californie

(*Pacifastacus leniusculus*), l'Écrevisse américaine (*Orconectes limosus*) et l'Écrevisse de Louisiane (*Procambarus clarkii*) peuvent être porteuse saine (Collas et al., 2014).

L'écrevisse à pattes blanches est présente dans des cours d'eau au régime hydraulique varié et même dans des plans d'eau, cependant elle affectionne principalement les eaux fraîches, bien renouvelées, et de bonne qualité physico-chimique. Elle trouve son optimum dans les zones à truites, cependant elle évite les zones très froides près des sources (Puissauve et al., 2015).

Austropotamobius pallipes n'est pas, lors des dernières enquêtes (Figure 6; ONEMA, 2016), connue sur le bassin versant de la Liane, ni même dans le département du Pas-de-Calais (historique de la répartition depuis 1977 en annexe 1), bien qu'elle fût historiquement présente (Laurent et Susillon, 1962). Toutefois, sa présence à récemment été signalée sur certains cours d'eau du département (communications personnelles).

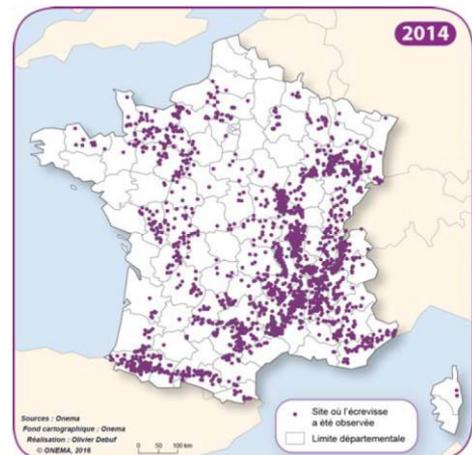


Figure 6 : Répartition de l'écrevisse à pattes blanches en France en 2014. Source : ONEMA

III. Matériel et méthode

III.1. Eléments de définitions



Figure 7 : Schéma explicatif de l'analyse de l'ADNe ©Spygen

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 dans le but de cibler le compartiment piscicole, mais aussi l'écrevisse à pattes blanches (*Austropotamobius pallipes*).

L'ADN extrait est ensuite amplifié par PCR (Polymerase Chain Reaction) grâce à des couples d'amorces spécifiques, permettant de déterminer la présence ou l'absence de l'espèce ciblée (Figure 7). Il existe deux approches différentes (proposées par le laboratoire SpyGen) qui sont : l'approche **multi-spécifique** (metabarcoding ou VigiDNA® M) et l'approche **mono-spécifique** (barcoding ou VigiDNA® S).

La technique multi-spécifique permet de détecter un ensemble d'espèces d'un groupe taxonomique donné, et est utilisée dans la présente étude pour l'obtention d'une liste de présence des espèces piscicoles.

La technique mono-spécifique permet quant à elle de détecter la présence d'un seul taxon cible mais avec une plus grande précision. Elle est plus généralement utilisée dans le cadre de recherche d'espèces rares, menacées ou invasives. Cette technique est utilisée ici pour détecter la présence de l'écrevisse à pattes blanches (*Austropotamobius pallipes*).

L'analyse de l'ADNe est une méthode qui possède l'avantage d'être non intrusive et facilement mise en place, nécessitant un déploiement humain et matériel réduit. Elle possède néanmoins certaines limites qu'il convient de garder à l'esprit lors des analyses :

Certains taxons ne peuvent actuellement qu'être décrits au niveau de la Famille à l'aide de l'étude de l'ADNe. Ceux-ci seront listés dans la partie résultats.

L'ADN possède une durée de vie dans le milieu aqueux d'environ 15 jours (en fonction de divers facteurs ; espèces, UV, T°...).

L'expertise ADN n'apporte pas de notion de biomasse, de taille ou de densité (information uniquement semi-quantitative grâce au nombre de répliques ou des séquences).

III.2. Protocole d'échantillonnage ADN

Le protocole de prélèvement est le même selon la technique d'analyse choisie (multi-spécifique ou mono-spécifique). Dans le cas de milieu lotique, comme c'est le cas sur la Liane et ses affluents, les prélèvements sont réalisés à l'aide d'une pompe péristaltique qui filtre l'eau durant un temps donné, à raison de deux répliques par station. Le protocole de mise en œuvre est le suivant :

- Préparation du matériel (capsule de filtration, pompe et perche) et étiquetage à l'aide de gants stériles afin d'éviter toutes contaminations.
- Fixation de l'extrémité du tuyau avec crépine sur la perche préalablement munie d'une protection plastique.
- Insertion de la capsule de filtration à l'autre extrémité du tuyau, en respectant le sens d'écoulement.
- Installation du tuyau dans la pompe péristaltique « Vampire Sampler® ».
- 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.
- Arrêt de la filtration et conditionnement de la capsule avec une solution tampon de conservation permettant de fixer l'ADN.
- Répétition pour le second réplica.

Une attention toute particulière est évidemment apportée aux risques de contaminations. L'opérateur doit rester attentif à sa manipulation afin de réduire ces risques au maximum. Les capsules sont ensuite envoyées au laboratoire SpyGen pour analyse génétique. Le délai de traitement classique est d'environ 3 mois. Un tableau récapitulatif des prélèvements est visible en annexe 2.

Les prélèvements sur les 12 stations ont été réalisés sur trois journées à l'aide de deux opérateurs les 24, 25 et 26 juin 2020, sans problème technique notable. Cette période cible particulièrement la fraie de la lamproie marine et des Aloses afin d'optimiser les chances de les détecter.

III.3. Sites de prélèvements

Les sites de prélèvements (Tableau 2 ; Annexe 1) sont répartis sur l'ensemble du tronçon de la Liane, ainsi que sur deux affluents : le ruisseau d'Ecames et la rivière Lèdre (Figure 8 et Figure 9). Le choix des sites de prélèvement a été réalisé en considération des objectifs principaux de l'étude et dans un souci d'optimisation de la détectabilité de l'ensemble des espèces.

Les stations Liane-4 et Liane-12 ont été choisies pour l'analyse mono-spécifique dans le but de détecter la présence de l'écrevisse à pattes blanches (*Austropotamobius pallipes*).

Tableau 2 : Sites de prélèvements

Station	Cours d'eau	Point kilométrique (en km)	Commune	Informations de localisation	Espèce / Groupe taxo. recherché
Liane-1	Liane	1,9	Saint-Martin-Boulogne	En bordure de la digue	Poisson
Liane-2	Liane	8	Isques	Derrière le camping	Poisson
Liane-3	Liane	10,1	Hesdigneul-les-Boulogne	Au niveau de la gare	Poisson
Liane-4	Ru d'Ecames	11,6	Hesdigneul-les-Boulogne	500 m en aval de la confluence avec le ruisseau des Plats cailloux	Poisson / <i>A. pallipes</i>
Liane-5	Liane	14	Carly	En amont de la commune de Carly	Poisson
Liane-6	Lèdre	17,1	Samer	En aval de la confluence avec le ruisseau des Lavandières	Poisson
Liane-7	Liane	17,6	Questrecques	En aval de l'ouvrage de Questrecques (front de migration)	Poisson
Liane-8	Liane	20,5	Wirwignes	En amont du ruisseau de la Haute Faude	Poisson
Liane-9	Liane	22,6	Cremarest	En aval du pont et de la confluence avec le ruisseau du Petit Hasard	Poisson
Liane-10	Liane	25,1	Alincthun		Poisson
Liane-11	Liane	29	Bournonville	En amont de la confluence avec le ruisseau de Bournonville	Poisson
Liane-12	Liane	31,4	Selles	En aval de la confluence avec le ruisseau de Vieil Moutier	Poisson / <i>A. pallipes</i>

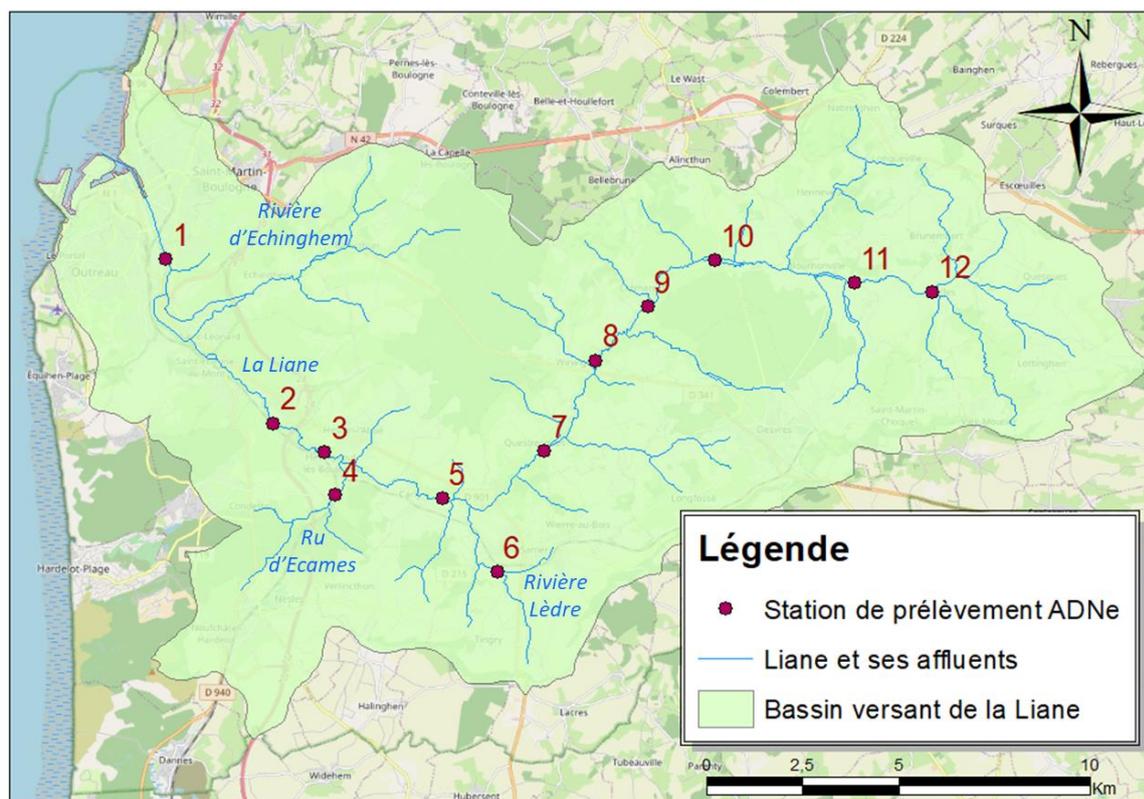


Figure 8 : Localisation des points de prélèvements



Station 1



Station 2



Station 3



Station 4



Station 5



Station 6



Station 7



Station 8



Station 9



Station 10



Station 11



Station 12

Figure 9 : Planche photographique des 12 stations de prélèvements sur la Liane et ses affluents

IV. Résultats

Prérequis

Lors de l'analyse des résultats, il faut garder à l'esprit les points suivants :

- D'éventuelles pollutions génétiques sont possibles et peuvent mener à des résultats aberrants, par exemple en aval d'une station d'épuration.
- L'ADN possède une durée de vie dans le milieu aqueux d'environ 15 jours (en fonction de divers facteurs : espèces, UV, T°...).
- Certains taxons ne peuvent actuellement qu'être décrits au niveau du genre ou de la Famille à l'aide de l'étude de l'ADNe (Tableau 3). Il est parfois possible de déduire, ou d'émettre des hypothèses sur l'espèce auquel le genre fait référence en fonction des caractéristiques de la station ou de l'absence certifiée de l'un des taxons. Cela n'est cependant pas possible ici pour les lamproies fluviatile et de Planer, toutes deux présentes sur le bassin. De la même manière, les analyses ne permettent pas de distinguer les séquences ADN de la Truite fario (*Salmo trutta fario*) et de la Truite de mer (*Salmo trutta trutta*). Il s'agit en effet de la même espèce, la Truite de mer étant un « écotype » qui va migrer en mer pour effectuer sa phase de grossissement. Concernant les Pleuronectidae, bien que les deux espèces du complexe 1 soient des espèces marines, seul le flet (*Platichthys flesus*) évolue en milieu dulçaquicole, la plie (*Pleuronectes platessa*) se bornant aux estuaires. Le taxon alors détecté sur la Liane est alors, sans grand doute, le flet.

Tableau 3 : Limites d'identification de certains taxons

Limites d'identification des taxons		
Carassius sp.	<i>Carassius auratus</i> , <i>Carassius carassius</i> ou <i>Carassius gibelio</i>	Carassin
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>	Chabot
Cyprinidae Complexe 2	<i>Ctenopharyngodon idella</i> ou <i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	Amour blanc ou carpe argentée
Cyprinidae Complexe 3	<i>Abramis brama</i> ou <i>Blicca bjoernka</i>	Brème commune ou bordelière
Cyprinidae Complexe 4	<i>Alburnus alburnus</i> ou <i>Scardinius erythrophthalmus</i>	Ablette ou Rotengle
Gobio sp.	<i>Gobio gobio</i> , <i>Gobio lozanoi</i> ou <i>Gobio occitaniae</i>	Goujon
Lampetra sp.	<i>Lampetra fluviatilis</i> ou <i>Lampetra planeri</i>	Lamproie fluviatile ou lamproie de Planer
Pleuronectidae Complexe 1	<i>Platichthys flesus</i> ou <i>Pleuronectes platessa</i>	Flet ou Plie commune
Salmo trutta	<i>Salmo trutta fario</i> ou <i>Salmo trutta trutta</i>	Truite fario ou Truite de mer

Les résultats transmis par le laboratoire Spygen présentent, pour chacun des deux prélèvements par station, le nombre de répliques positifs, ainsi que le nombre de séquences ADN identifiées. Les répliques sont au nombre de 12 par prélèvements afin de garantir une certitude quant à la présence d'une espèce. Le nombre de répliques positifs (x/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. Cette analyse reste cependant à considérer avec précaution car de nombreux autres facteurs que le nombre d'individus peuvent influencer sur la quantité d'ADN récoltée, comme par exemple la distance des individus au point de prélèvement ou leur taille. Le frai des poissons peut également fortement augmenter la quantité de matériel génétique relarguée dans le milieu, il est donc important de tenir compte de la période de frai des différentes espèces dans l'analyse des résultats.

Cas particulier de la Truite arc-en-ciel :

Lors de l'analyse de l'ADN, Spygen compare les séquences de gènes obtenues par extraction PCR à plusieurs bases de données afin d'identifier les taxons. Alors que la quasi-totalité des séquences ont trouvé correspondance avec des séquences de la base de référence de Spygen, certaines séquences ont été assimilées à *Onchorynchus clarkii* de la base de référence de l'EMBL.

Cette espèce n'étant pas présente sur le territoire, il a été admis par Spygen qu'il s'agirait bien de la Truite arc-en-ciel (*Onchorynchus mykiss*), qui posséderait des séquences d'ADN communes avec la clarkii, utilisées dans la base de référence.

Pour l'analyse des résultats, les nombres de séquences correspondant à la truite arc-en-ciel issues de base de référence EMBL et de celle de Spygen ont été additionnées.

IV.1. Approche multi-spécifiques sur le compartiment ichtyologique

IV.1.1. Vue d'ensemble sur le bassin versant de la Liane

Les analyses ont permis de détecter l'ADN de 21 espèces de poissons sur l'ensemble des stations échantillonnées sur la Liane et ses affluents. La liste taxonomique complète est présentée dans le Tableau 4.

D'après l'analyse du nombre de répliques positifs et de séquences de gènes retrouvées (Tableau 5), les espèces les plus communément retrouvées sur le bassin de la Liane sont l'anguille (*Anguilla anguilla*) et le chabot (*Cottus sp.*) accompagnées du goujon (*Gobio sp.*), du vairon (*Phoxinus phoxinus*), et de la truite (*Salmo trutta*). Les espèces qui apparaissent les moins représentées sont la lamproie marine (*Petromyzon marinus*), le mulot porc (*Chelon ramada*), la brème commune ou bordelière (*Abramis brama* ou *Blicca bjoernka*) et le brochet (*Esox lucius*).

Tableau 4 : Liste des espèces piscicoles détectées par l'ADNe sur le bassin de la Liane

(*Quantité d'ADN insuffisante pour certifier la détection du taxon dans l'échantillon- **Espèces consommées, issues de rejet)

Nom vernaculaire	Code taxon	Nom scientifique
Brème commune	BRE*	<i>Abramis brama</i>
Brème (commune ou bordelière)	BRE/BRB	<i>Abramis brama</i> ou <i>Blicca bjoernka</i>
Ablette	ABL	<i>Alburnus alburnus</i>
Anguille	ANG	<i>Anguilla anguilla</i>
Carassin	CAS	<i>Carassius sp.</i>
Mulet porc	MUP	<i>Chelon ramada</i>
Chabot	CHA	<i>Cottus sp.</i>
Amour blanc ou carpe argenté	CTI/CAR*	<i>Ctenopharyngodon idella</i> ou <i>Hypophthalmichthys molitrix</i>
Carpe commune	CCO	<i>Cyprinus carpio</i>
Brochet	BRO	<i>Esox lucius</i>
Gadidae	/**	<i>Gadidae</i>
Epinoche	EPI	<i>Gasterosteus aculeatus</i>
Goujon	GOU	<i>Gobio sp.</i>
Grémille	GRE	<i>Gymnocephalus cernuus</i>
Lamproie	LPR/LPP	<i>Lampetra sp.</i>
Truite arc-en-ciel	TAC	<i>Oncorhynchus mykiss</i>
Perche fluviatile	PER	<i>Perca fluviatilis</i>
Lamproie marine	LPM	<i>Petromyzon marinus</i>
Vairon	VAI	<i>Phoxinus phoxinus</i>
Flet	FLE	<i>Pleuronectidae</i>
Gardon	GAR	<i>Rutilus rutilus</i>
Saumon atlantique	SAT**	<i>Salmo salar</i>
Truite	TRF/TRM	<i>Salmo trutta</i>
Sardine	SAR**	<i>Sardina pilchardus</i>
Rotengle	ROT	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>
Tanche	TAN*	<i>Tinca tinca</i>

Tableau 5 : Tendances globales de la population piscicole de la Liane et ses affluents obtenues via l'ADNe

(*Occurrence pour les 14 prélèvements réalisés - **Total des séquences sur l'ensemble des 14 prélèvements)

Diversité totale détectée :	21	
Richesse moyenne	10	
Richesse minimum par station	6 (Li-1)	
Richesse maximum par station	17 (Li-3)	
Taxons les plus représentés (occurrence*/séquences totales**)	ANG (24/665488)	CHA (22/2131805)
Taxons les moins représentés (occurrence*/séquences totales**)	LPM (2/63)	MUP (2/55006)
Espèces migratrices	ANG, LPM, LPR, TRM	
Espèces patrimoniales détectées	ANG, CHA, BRO, LPM, LPR/LPP, TRF, TRM	

Sur l'ensemble des prélèvements réalisés, 6 espèces dites patrimoniales ont été retrouvées (présence des deux espèces de *Lampetra*). Leurs statuts sont visibles dans le Tableau 6 ci-dessous. 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. Ce statut d'espèce patrimoniale n'est pas un statut légal ou réglementaire mais constitue un bon indicateur de la richesse d'un territoire.

Tableau 6 : Listes des espèces patrimoniales détectées sur la Liane et leurs statuts de conservation

Nom scientifique	Nom vernaculaire	Liste rouge française	Directive Habitat-Faune-Flore*
<i>Anguilla anguilla</i>	Anguille	CR	
<i>Cottus sp.</i>	Chabot	LC	Annexe II
<i>Esox lucius</i>	Brochet	VU	
<i>Lampetra fluviatilis</i>	Lamproie de rivière	VU	Annexe II et V
<i>Lampetra planeri</i>	Lamproie de Planer	LC	Annexe II
<i>Salmo trutta</i>	Truite Fario	LC	
<i>Petromyzon marinus</i>	Lamproie marine	EN	Annexe II

* La directive 92/43/CEE concerne la conservation des habitats naturels ainsi que de la faune et de la flore sauvages (Conseil de l'Union Européenne, 1992). L'annexe II de la directive définit les espèces animales et végétales d'intérêt communautaire dont la conservation nécessite la désignation et l'annexe V les espèces animales et végétales d'intérêt communautaire dont le prélèvement dans la nature et l'exploitation sont susceptibles de faire l'objet de mesures de gestion.

** Les sigles de la liste rouge nationale (UICN Comité français et *al.*, 2019) sont : CR (en danger critique d'extinction), EN (en danger), VU (vulnérable), NT (quasi menacée), LC (préoccupation mineure), DD (données insuffisantes), NE (non évaluée) et NA (non applicable car espèce introduite sur la période récente).

Parmi ces espèces patrimoniales, on compte les grands migrateurs. On retrouve ici l'Anguille européenne, la Lamproie marine, la Lamproie de rivière et la Truite de mer.

En termes d'espèces exotiques, c'est-à-dire d'espèces allochtones introduites par l'Homme (volontairement ou de façon fortuite), seuls des taxons acclimatés sont à signaler (Truite arc-en-ciel, Carassin, Carpe). Ces derniers ne sont pas susceptibles de provoquer des déséquilibres biologiques et ne présentent pas de caractère invasif.

IV.1.2. Analyse stationnelle

Station Liane-1

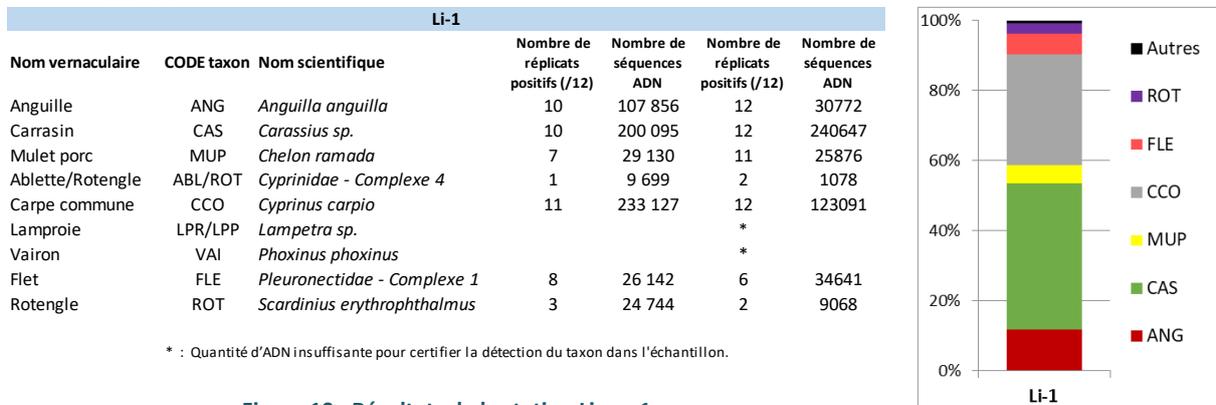
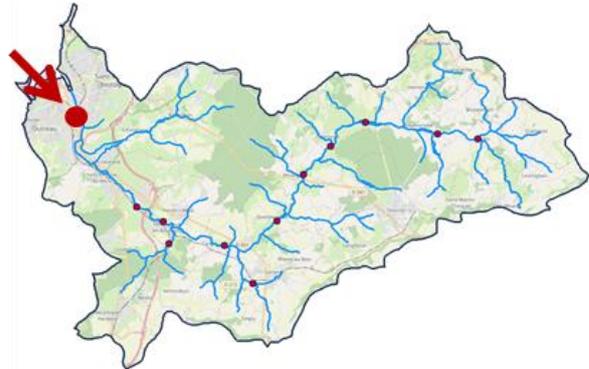


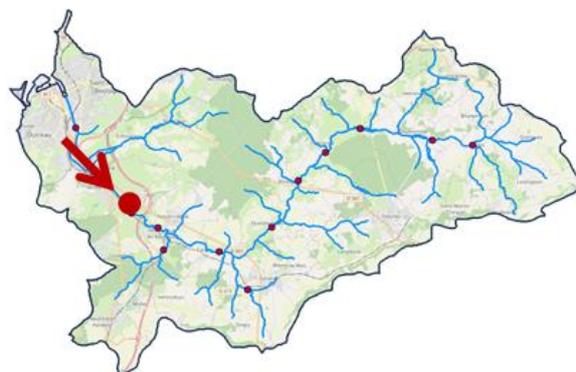
Figure 10 : Résultats de la station Liane-1

Sur la station Liane-1 située sur la Liane à moins de 2 km du trait de côte, au niveau de la commune de Saint-Martin-Boulogne, 7 espèces de poissons ont été détectées. Deux espèces inféodées aux milieux marins ont été retrouvés : le Mulet porc (*Chelon ramada*) et le Flet (*Pleuronectidae*) bien que ce dernier puisse remonter assez profondément dans les terres.

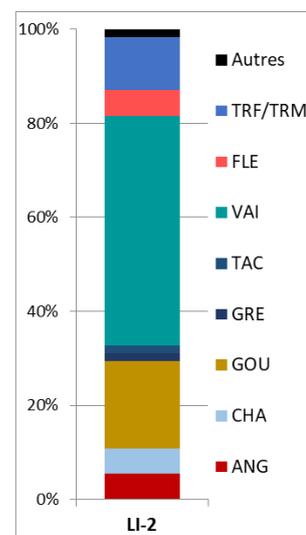
De l'ADN de Lamproie fluviatile ou de Planer (*Lampetra sp.*) et de vairon (*Phoxinus phoxinus*) a également été retrouvé, mais en quantité trop infime pour valider leur présence. La présence de ces taxons est cependant avérée plus en amont, et notamment sur la station Liane-2 située à Isques à environ 6 km, expliquant cette faible détection d'ADN.

En termes de nombre de séquences d'ADN, ce sont le Carrasin (*Carassius sp.*) et la Carpe commune (*Cyprinus carpio*) qui sont majoritaire, suivi de l'Anguille (*Anguilla anguilla*) et du Mulet porc (*Chelon ramada*).

Station Liane-2



Li-2						
Nom vernaculaire	CODE taxon	Nom scientifique	Nombre de répliquats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN	Nombre de répliquats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN
Ablette	ABL	<i>Alburnus alburnus</i>	*		*	
Anguille	ANG	<i>Anguilla anguilla</i>	12	26 728	12	32 980
Chabot	CHA	<i>Cottus sp.</i>	12	22 519	12	38 851
Ablette/Rotengle	ABL/ROT	<i>Cyprinidae</i> - Complexe 4	*		*	
Carpe commune	CCO	<i>Cyprinus carpio</i>	3	59	3	230
Brochet	BRO	<i>Esox lucius</i>			*	
Epinoche	EPI	<i>Gasterosteus aculeatus</i>	1	67	3	169
Goujon	GOU	<i>Gobio sp.</i>	12	77 924	12	131 117
Grémille	GRE	<i>Gymnocephalus cernua</i>	12	8 440	12	10 371
Lamproie	LPR/LPP	<i>Lampetra sp.</i>	11	957	12	1 478
Truite arc-en-ciel	TAC	<i>Oncorhynchus sp.</i>	12	4 867	12	13 510
Perche fluviatile	PER	<i>Perca fluviatilis</i>	12	2 597	7	2 845
Lamproie marine	LPM	<i>Petromyzon marinus</i>	2	37	1	26
Vairon	VAI	<i>Phoxinus phoxinus</i>	12	258 078	12	274 286
Flet	FLE	<i>Pleuronectidae</i>	12	20 364	12	42 600
Gardon	GAR	<i>Rutilus rutilus</i>	12	3 438	12	6 795
Truite	TRF/TRM	<i>Salmo trutta</i>	12	51 491	12	73 365
Rotengle	ROT	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	4	420	3	99



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

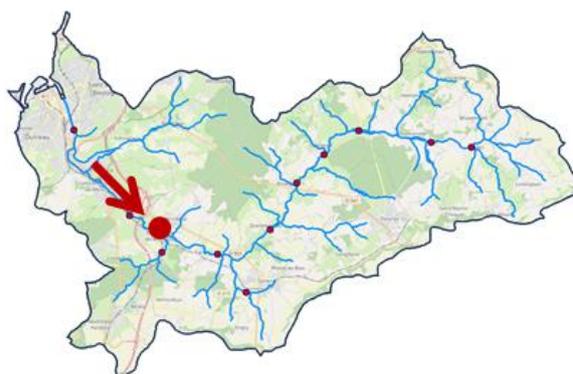
Figure 11 : Résultats de la station Liane-2

La station Liane-2 située sur la Liane au niveau de la commune d'Isques présente une diversité de 15 espèces. Les espèces majoritairement présentes selon les séquences ADN dénombrées sont le vairon (*Phoxinus phoxinus*) et le goujon (*Gobio sp.*).

Il est à noter la détection de la lamproie marine (*Petromyzon marinus*) dont l'ADN n'a été mis en évidence sur aucune autre station. Le nombre de séquences ADN est très faible (63) et seuls 3 répliquats sont positifs sur l'ensemble des deux prélèvements réalisés. Cela indique une faible présence de l'espèce dans le milieu.

Egalement, de l'ADN de Sardine (*Sardina pilchardus*) a été retrouvé en infime quantité. Celui-ci est sans nul doute issu de rejets liés à la consommation humaine.

Station Liane-3



LI-3

Nom vernaculaire	CODE taxon	Nom scientifique	Nombre de répliquats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN	Nombre de répliquats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN
Ablette	ABL	<i>Alburnus alburnus</i>	6	598	2	168
Anguille	ANG	<i>Anguilla anguilla</i>	12	28 407	12	15 461
Carrasin	CAS	<i>Carassius sp.</i>	*		*	
Chabot	CHA	<i>Cottus sp.</i>	12	4 114	12	3 312
Breme commune ou bordelière	BRE/BRB	Cyprinidae - Complexe 3 : <i>Abramis brama</i> ou <i>blicca bjoernka</i>	6	929	5	903
Ablette/Rotengle	ABL/ROT	Cyprinidae - Complexe 4			*	
Carpe commune	CCO	<i>Cyprinus carpio</i>	11	1 176	11	581
Brochet	BRO	<i>Esox lucius</i>	1	43	2	53
Gadidae		<i>Gadidae</i>			5	143
Epinoche	EPI	<i>Gasterosteus aculeatus</i>	5	238	3	162
Goujon	GOU	<i>Gobio sp.</i>	12	54 925	12	34 056
Grémille	GRE	<i>Gymnocephalus cernua</i>	12	15 267	12	12 284
Lamproie	LPR/LPP	<i>Lampetra sp.</i>	12	1 418	10	965
Truite arc-en-ciel	TAC	<i>Oncorhynchus sp.</i>	12	21 513	11	7 061
Perche fluviatile	PER	<i>Perca fluviatilis</i>	5	326	3	121
Vairon	VAI	<i>Phoxinus phoxinus</i>	12	82 579	12	64 200
Flet	FLE	Pleuronectidae	12	14 939	12	6 558
Gardon	GAR	<i>Rutilus rutilus</i>	12	4 522	12	4 697
Saumon atlantique	SAT	<i>Salmo salar</i>			*	
Truite	TRF/TRM	<i>Salmo trutta</i>	12	32 374	12	21 956
Rotengle	ROT	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	7	309	4	286

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

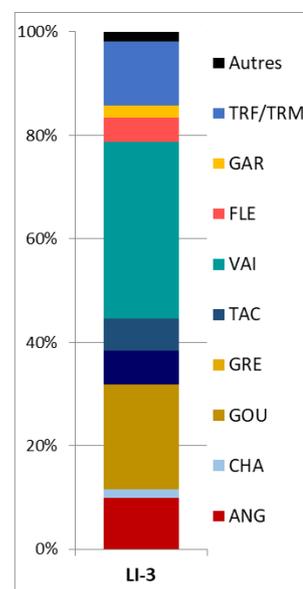


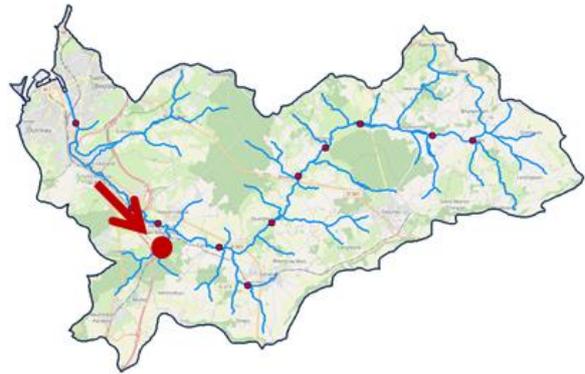
Figure 12 : Résultats de la station Liane-3

La station Liane-3 située sur la Liane au niveau d'Hesdigneul-les-Boulogne présente une diversité de 17 espèces, ce qui est la diversité la plus importante retrouvée sur l'ensemble des stations.

Le cortège d'espèce apparaît assez similaire à celui de la station Liane-2 située en aval avec en plus des détections d'Ablette, de Brochet et de Brème. L'ADN de Lamproie marine n'a cependant pas été mis en évidence sur cette station.

Il ressort également de l'analyse la présence de séquence d'ADN de *Gadidae*, famille de poissons marins très couramment consommés, et, en très faible quantité, de Saumon atlantique (*Salmo salar*). Tout comme pour la sardine retrouvés sur la station Liane-2, la présence de l'ADN de ces taxons dans la Liane est induite par des rejets domestiques, suite à leur consommation.

Station Liane-4



LI-4						
Nom vernaculaire	CODE taxon	Nom scientifique	Nombre de répliquats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN	Nombre de répliquats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN
Anguille	ANG	<i>Anguilla anguilla</i>	12	100 419	12	71 316
Chabot	CHA	<i>Cottus sp.</i>	12	89 436	12	56 606
Ablette/Rotengle	ABL/ROT	<i>Cyprinidae - Complexe 4</i>	5	3 603		
Carpe commune	CCO	<i>Cyprinus carpio</i>	4	1 057	2	553
Brochet	BRO	<i>Esox lucius</i>	6	2 252	1	417
Epinoche	EPI	<i>Gasterosteus aculeatus</i>	5	1 108	2	149
Goujon	GOU	<i>Gobio sp.</i>	12	13 254	5	10 051
Lamproie	LPR/LPP	<i>Lampetra sp.</i>	11	3 069	7	1 553
Truite arc-en-ciel	TAC	<i>Oncorhynchus sp.</i>	2	1 547	2	942
Perche fluviatile	PER	<i>Perca fluviatilis</i>	9	7 749	3	2 018
Vairon	VAI	<i>Phoxinus phoxinus</i>	12	4 757	9	4 592
Gardon	GAR	<i>Rutilus rutilus</i>	9	6 297	4	4 046
Truite	TRF/TRM	<i>Salmo trutta</i>	12	145 535	12	93 296
Rotengle	ROT	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	4	3 533		

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

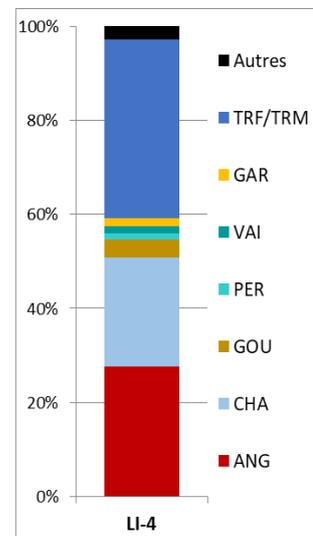


Figure 13 : Résultats de la station Liane-4

Sur la station Liane-4 située sur le ruisseau d'Ecames, un affluent de la Liane, 13 espèces ont été détectées. En terme d'assemblage faunistique cette station apparaît assez proche des stations Liane-2 et Liane-3 situées en aval, cependant, en se fiant aux nombres de séquences ADN retrouvées, on note que le cortège d'espèce dominantes est différents. En effet, celui-ci est composé de la Truite, de l'Anguille et du Chabot, assemblage plus typique de la « zone à Truite ».

Station Liane-5

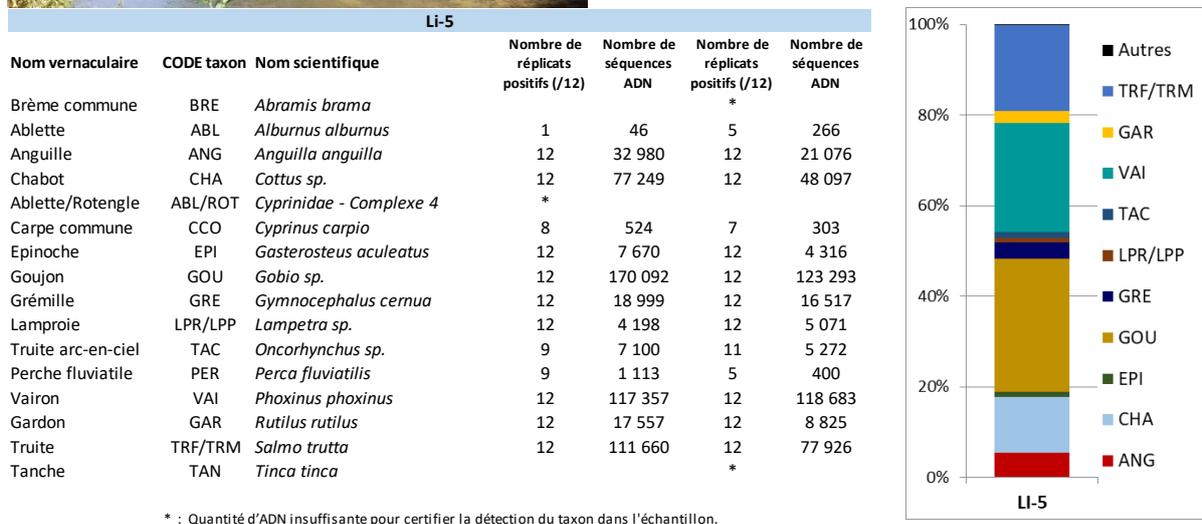
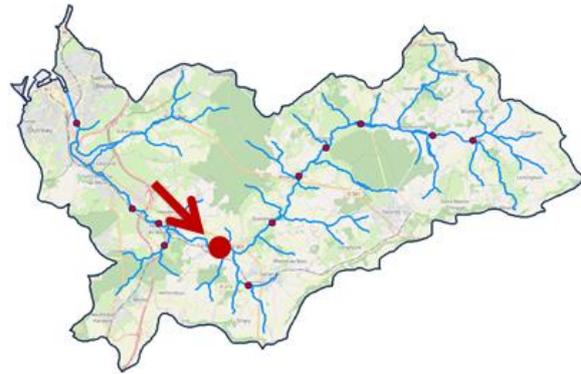
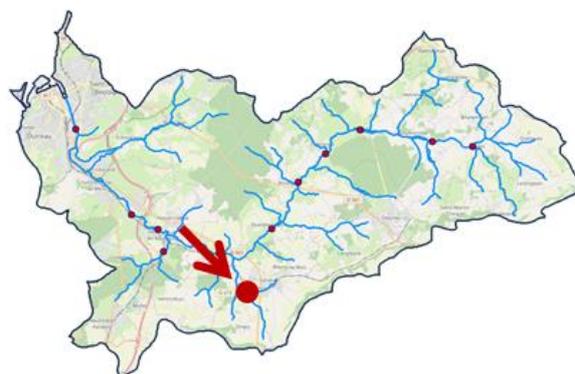
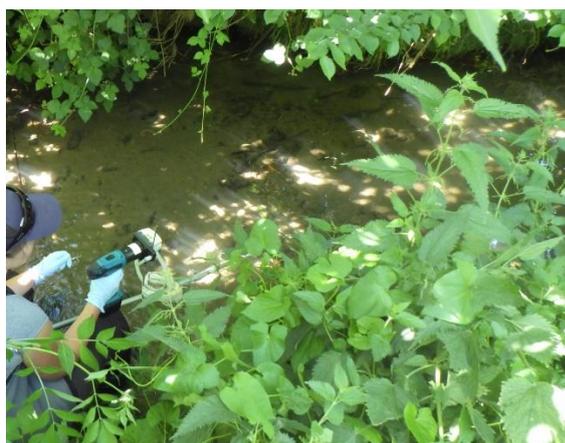


Figure 14 : Résultats de la station Liane-5

La station Liane-5, située en amont de la commune de Carly, présente une diversité de 13 espèces. Elle est dominée, en terme de dénombrement de séquence par le Goujon et le Vairon, suivi de près par la Truite et le Chabot.

Des séquences d'ADN de Tanche ont également été trouvées sur cette station, mais en quantité trop faible pour certifier sa présence. Son ADN n'a été retrouvé sur aucune autre station, ce qui ne permet pas de valider sa présence.



LI-6						
Nom vernaculaire	CODE taxon	Nom scientifique	Nombre de répliquats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN	Nombre de répliquats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN
Anguille	ANG	<i>Anguilla anguilla</i>	11	9 495	12	7 946
Chabot	CHA	<i>Cottus sp.</i>	11	237 200	12	397 865
Amour blanc ou car	CTI/CAR	<i>Cyprinidae - Complexe 2</i>			*	
Breme commune ou bordelière	BRE/BRB	<i>Abramis brama ou blicca bjoemka</i>			5	1 032
Carpe commune	CCO	<i>Cyprinus carpio</i>	*			
Epinoche	EPI	<i>Gasterosteus aculeatus</i>	11	1 383	11	1 899
Lamproie	LPR/LPP	<i>Lampetra sp.</i>	11	1 731	11	1 034
Truite arc-en-ciel	TAC	<i>Oncorhynchus sp.</i>	8	1 889	11	3 795
Perche fluviatile	PER	<i>Perca fluviatilis</i>	6	352	5	259
Gardon	GAR	<i>Rutilus rutilus</i>	11	10 796	12	14 414

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

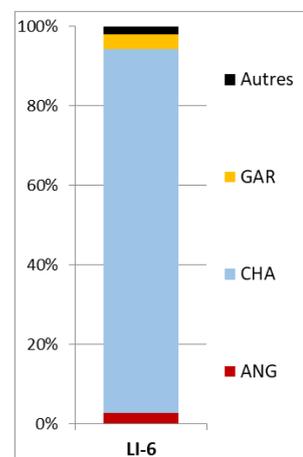


Figure 15 : Résultats de la station Liane-6

Les prélèvements réalisés sur la station Liane-6, située sur la rivière Lèdre, un affluent de la Liane, mettent en évidence la présence de 8 espèces de poissons.

Au vu du nombre de séquences d'ADN extraites, la population est très largement dominée par le Chabot, et un point particulièrement notable est l'absence de la Truite fario, du Vairon et du Goujon, espèces présente sur la quasi-totalité des stations (excepté la station Liane-1, a proximité de l'estuaire).

Station Liane-7

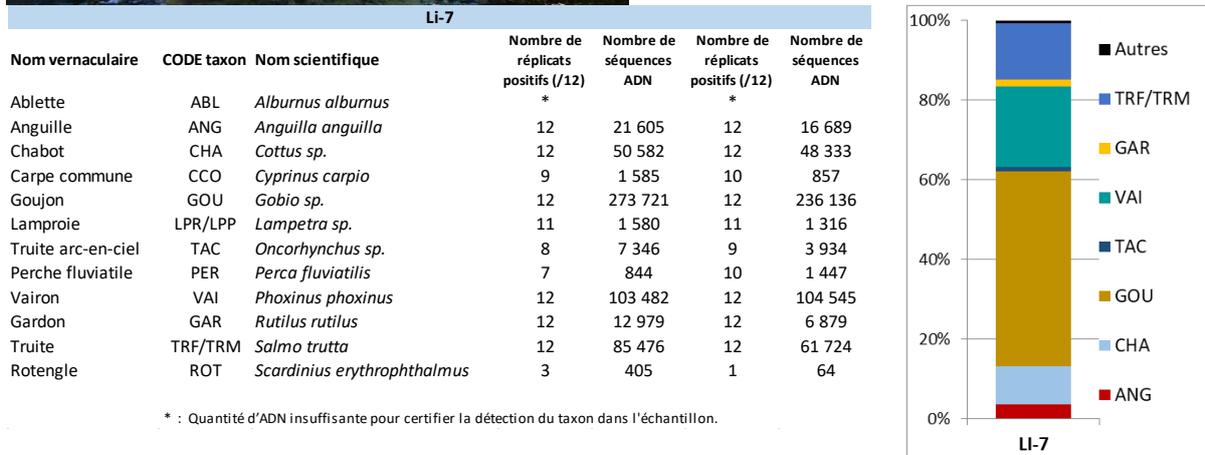
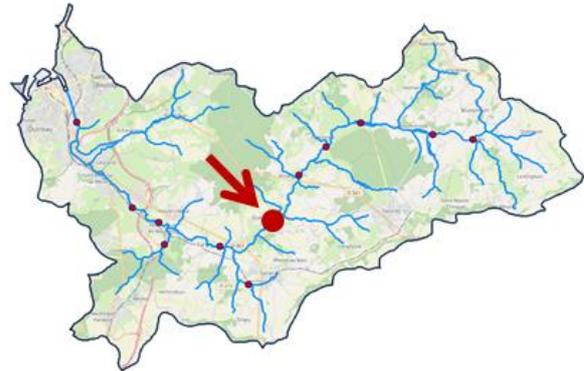


Figure 16 : Résultats de la station Liane-7

Au niveau de la station Liane-7, située en aval de l'ouvrage du moulin de Questrecques, constituant jusqu'alors le front de migration pour les Lamproies, 11 espèces ont été dénombrées.

Elle est dominée, en terme de dénombrement de séquence par le Goujon, le Vairon, et la Truite (*Salmo trutta*). On remarque que la diversité est légèrement plus faible que pour les stations plus aval du tronçon de la Liane, et que certaines espèces davantage inféodées à la zone à Barbeau ne sont plus retrouvées, comme l'Épinoche, la Grémille ou le Brochet.

Station Liane-8

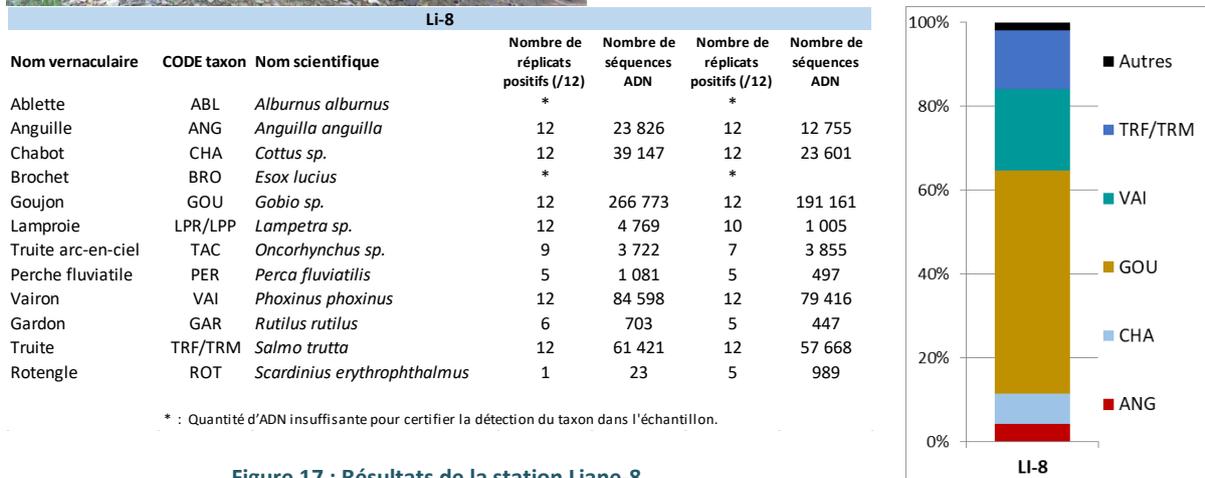
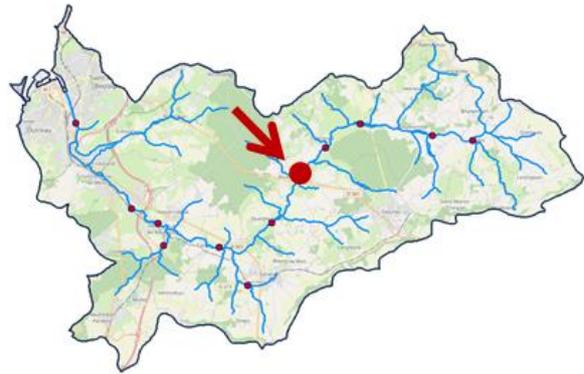
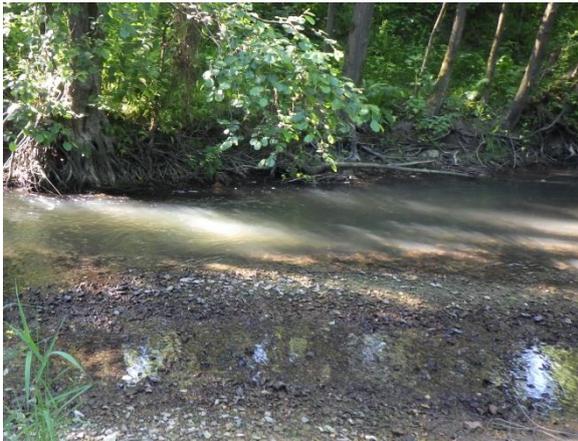


Figure 17 : Résultats de la station Liane-8

La station Liane-8, située au niveau de la commune de Wirwignes, présente une diversité de 10 espèces. Le peuplement en place apparaît relativement similaire à la station Liane-7 située en aval, mis à part l'absence de la Carpe, et une présence de Gardon nettement réduite.

Station Liane-9

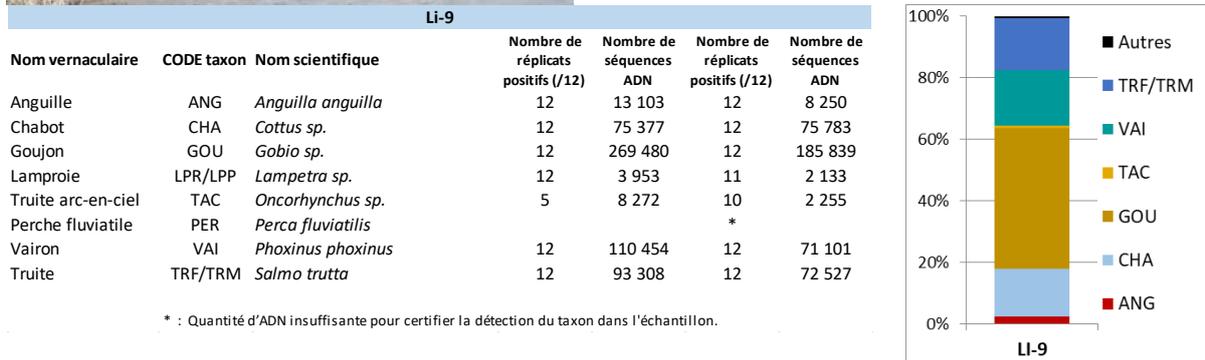
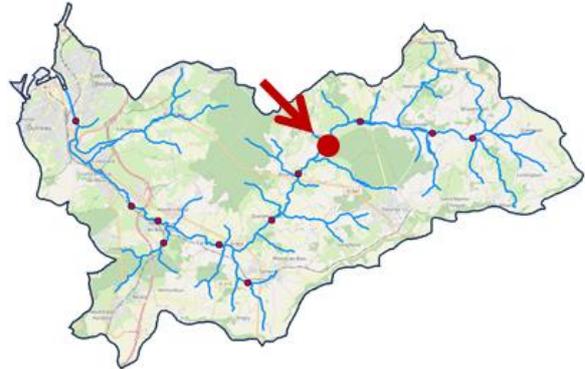
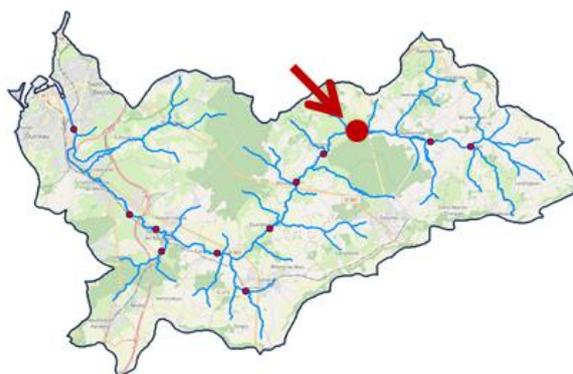
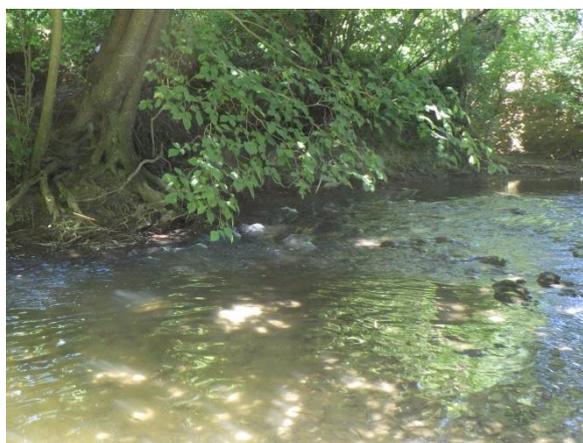


Figure 18 : Résultats de la station Liane-9

Concernant la station Liane-9, située à Crémarest, seules 7 espèces y ont été détectées. Relativement similaire aux stations Liane-7 et Liane-8, en terme de distribution, on note pour celle-ci l'absence du Gardon, de la Perche et du Rotengle.

Station Liane-10



LI-10

Nom vernaculaire	CODE taxon	Nom scientifique	Nombre de répliquats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN	Nombre de répliquats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN
Anguille	ANG	<i>Anguilla anguilla</i>	12	12 423	12	13 819
Chabot	CHA	<i>Cottus sp.</i>	12	67 775	12	65 793
Goujon	GOU	<i>Gobio sp.</i>	12	85 898	12	88 534
Lamproie	LPR/LPP	<i>Lampetra sp.</i>	12	1 679	12	1 310
Truite arc-en-ciel	TAC	<i>Oncorhynchus sp.</i>	12	11 905	12	11 750
Vairon	VAI	<i>Phoxinus phoxinus</i>	12	79 626	12	101 512
Gardon	GAR	<i>Rutilus rutilus</i>	*			
Truite	TRF/TRM	<i>Salmo trutta</i>	12	142 803	12	137 930

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

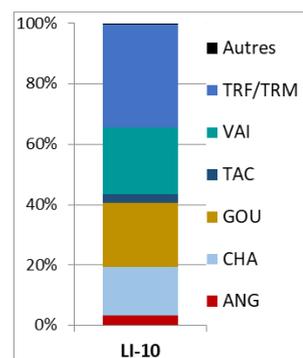
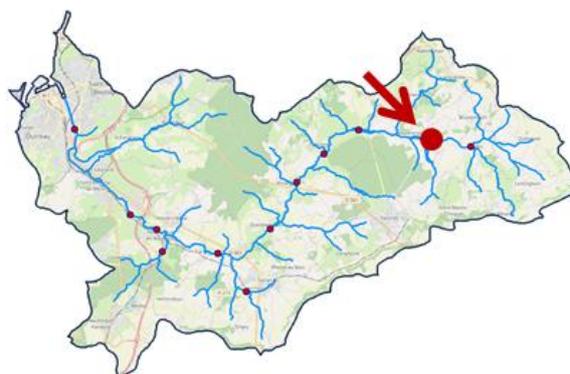


Figure 19 : Résultats de la station Liane-10

Les analyses ADN menées sur la station Liane-10, mettent en évidence une diversité de 8 espèces. L'analyse du nombre de séquences montre que le cortège d'espèce est dominé par la Truite (*Salmo trutta*), le Goujon, le Vairon et le Chabot, assemblage typique de la zone à Truite.

Sur les stations 11 et 12, 8 espèces différentes sont présentes. On y retrouve encore l'assemblage typique des têtes de bassin, un peu plus marquée que sur la station Liane-10, avec un nombre de séquence de Truite (*Salmo trutta*) et de Chabot plus importante.

Station Liane-11



Li-11			
Nom vernaculaire	CODE taxon	Nom scientifique	
Anguille	ANG	<i>Anguilla anguilla</i>	
Chabot	CHA	<i>Cottus sp.</i>	
Goujon	GOU	<i>Gobio sp.</i>	
Lamproie	LPR/LPP	<i>Lampetra sp.</i>	
Truite arc-en-ciel	TAC	<i>Oncorhynchus sp.</i>	
Vairon	VAI	<i>Phoxinus phoxinus</i>	
Gardon	GAR	<i>Rutilus rutilus</i>	
Truite	TRF/TRM	<i>Salmo trutta</i>	

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

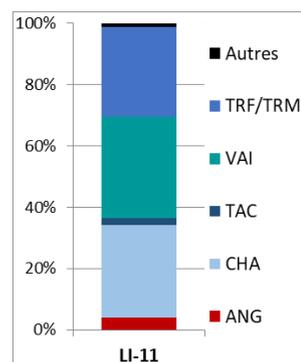
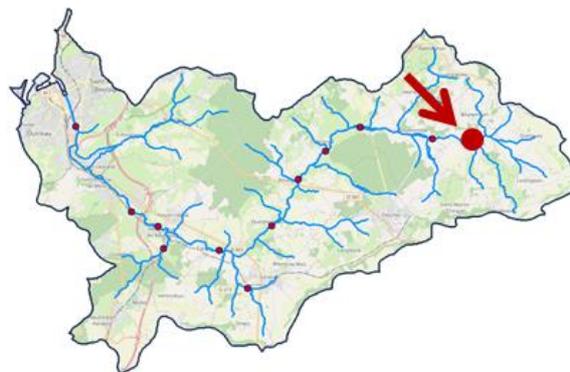


Figure 20 : Résultats de la station Liane-11

Station Liane-12



Li-12			
Nom vernaculaire	CODE taxon	Nom scientifique	
Anguille	ANG	<i>Anguilla anguilla</i>	
Chabot	CHA	<i>Cottus sp.</i>	
Brochet	BRO	<i>Esox lucius</i>	*
Goujon	GOU	<i>Gobio sp.</i>	*
Lamproie	LPR/LPP	<i>Lampetra sp.</i>	
Truite arc-en-ciel	TAC	<i>Oncorhynchus sp.</i>	
Vairon	VAI	<i>Phoxinus phoxinus</i>	
Gardon	GAR	<i>Rutilus rutilus</i>	
Truite	TRF/TRM	<i>Salmo trutta</i>	
Rotengle	ROT	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	

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

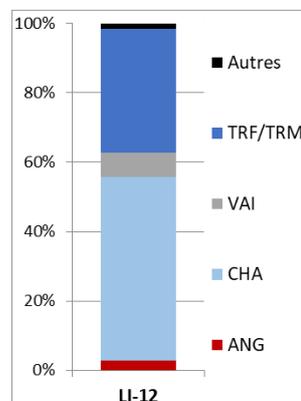


Figure 21 : Résultats de la station Liane-12

IV.1.3. Evolution longitudinale

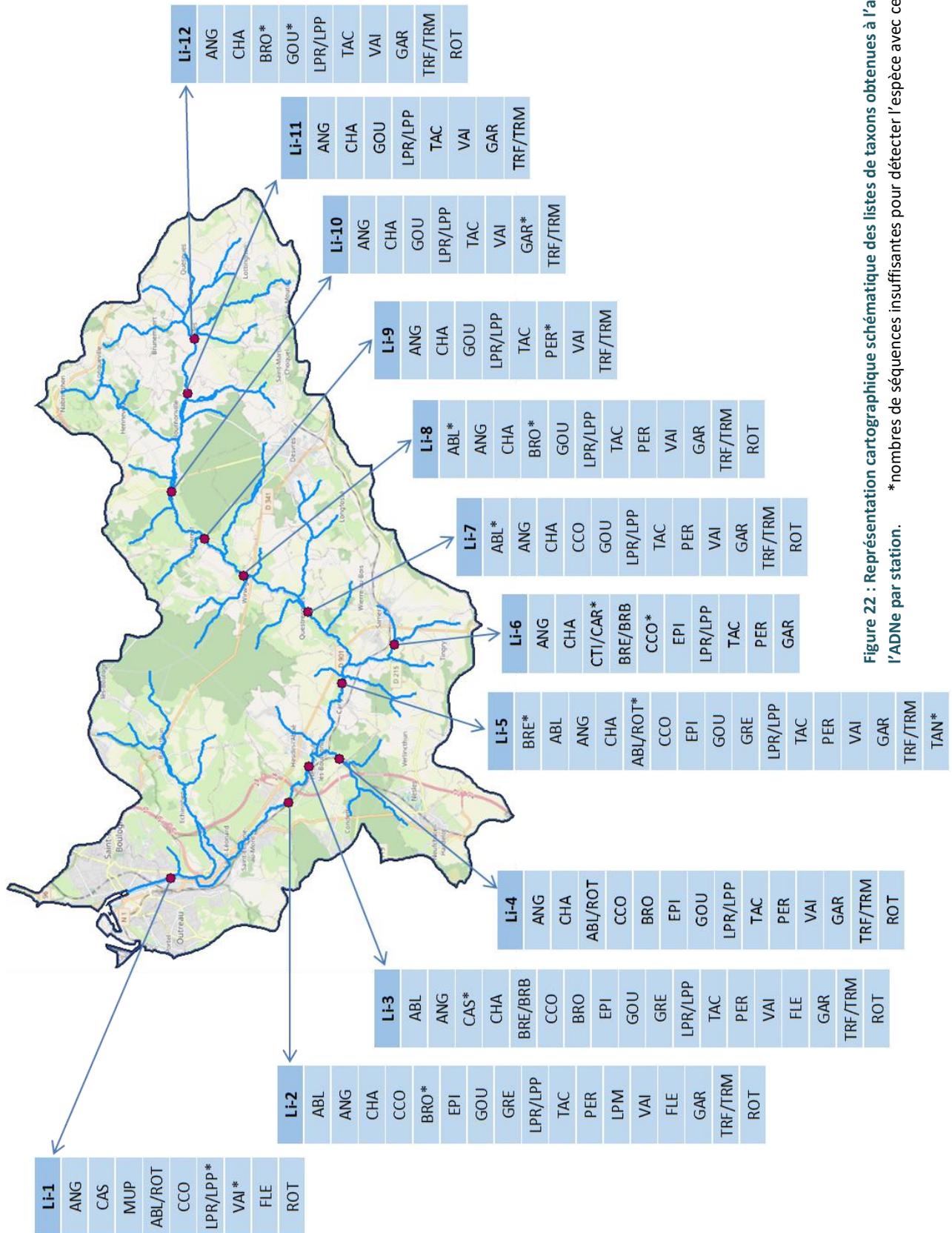


Figure 22 : Représentation cartographique schématique des listes de taxons obtenues à l'aide de l'ADNe par station. *nombres de séquences insuffisantes pour détecter l'espèce avec certitude.

Tableau 7 : Récapitulatif des taxons détectés par station

Nom vernaculaire	Code taxon	Nom scientifique	LI-1	LI-2	LI-3	LI-4	LI-5	LI-6	LI-7	LI-8	LI-9	LI-10	LI-11	LI-12
Brème commune	BRE	<i>Abramis brama</i>		*			*							
Ablette	ABL	<i>Alburnus alburnus</i>		*	X		X		*					
Anguille	ANG	<i>Anguilla anguilla</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Carrasin	CAS	<i>Carassius sp.</i>	X		*									
Mulet porc	MUP	<i>Chelon ramada</i>	X											
Chabot	CHA	<i>Cottus sp.</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Amour blanc ou amour argenté	CTI/CAR	<i>Cyprinidae</i> - Complexe 2						*						
Breme commune ou bordelière	BRE/BRB	<i>Cyprinidae</i> - Complexe 3			X			X						
Ablette ou Rotengle	ABL/ROT	<i>Cyprinidae</i> - Complexe 4	X	*	*	X	*							
Carpe commune	CCO	<i>Cyprinus carpio</i>	X	X	X	X	X	*	X					*
Brochet	BRO	<i>Esox lucius</i>		*	X	X				*				
Gadidae		<i>Gadidae</i>			X									
Epinoche	EPI	<i>Gasterosteus aculeatus</i>		X	X	X	X	X						*
Goujon	GOU	<i>Gobio sp.</i>		X	X	X	X		X	X	X	X	X	
Grémille	GRE	<i>Gymnocephalus cernua</i>		X	X		X							
Lamproie	LPR/LPP	<i>Lampetra sp.</i>	*	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Truite arc-en-ciel	TAC	<i>Oncorhynchus mykiss</i>		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Perche fluviatile	PER	<i>Perca fluviatilis</i>		X	X	X	X	X	X	X	*			
Lamproie marine	LPM	<i>Petromyzon marinus</i>		X										
Vairon	VAI	<i>Phoxinus phoxinus</i>	*	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X
Flet	FLE	<i>Pleuronectidae</i> - Complexe 1	X	X	X									
Gardon	GAR	<i>Rutilus rutilus</i>		X	X	X	X	X	X	X		*	X	X
Saumon atlantique	SAT	<i>Salmo salar</i>			*									
Truite	TRF/TRM	<i>Salmo trutta</i>		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Sardine	SAR	<i>Sardina pilchardus</i>		*										
Rotengle	ROT	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	X	X	X	X	X		X	X				X
Tanche	TAN	<i>Tinca tinca</i>					*							
Diversité spécifique			6	15	17	13	13	8	11	10	7	7	8	8

X = Présence ; * = Quantité d'ADN insuffisante pour certifier la détection du taxon dans l'échantillon

La cartographie de la Figure 22 ainsi que le tableau de présence (Tableau 7) permettent de se rendre compte de la répartition longitudinale des différentes espèces piscicoles sur l'ensemble du bassin versant de la Liane. L'occurrence de chaque espèce sur chacune des stations échantillonnées est visible sur la Figure 23.

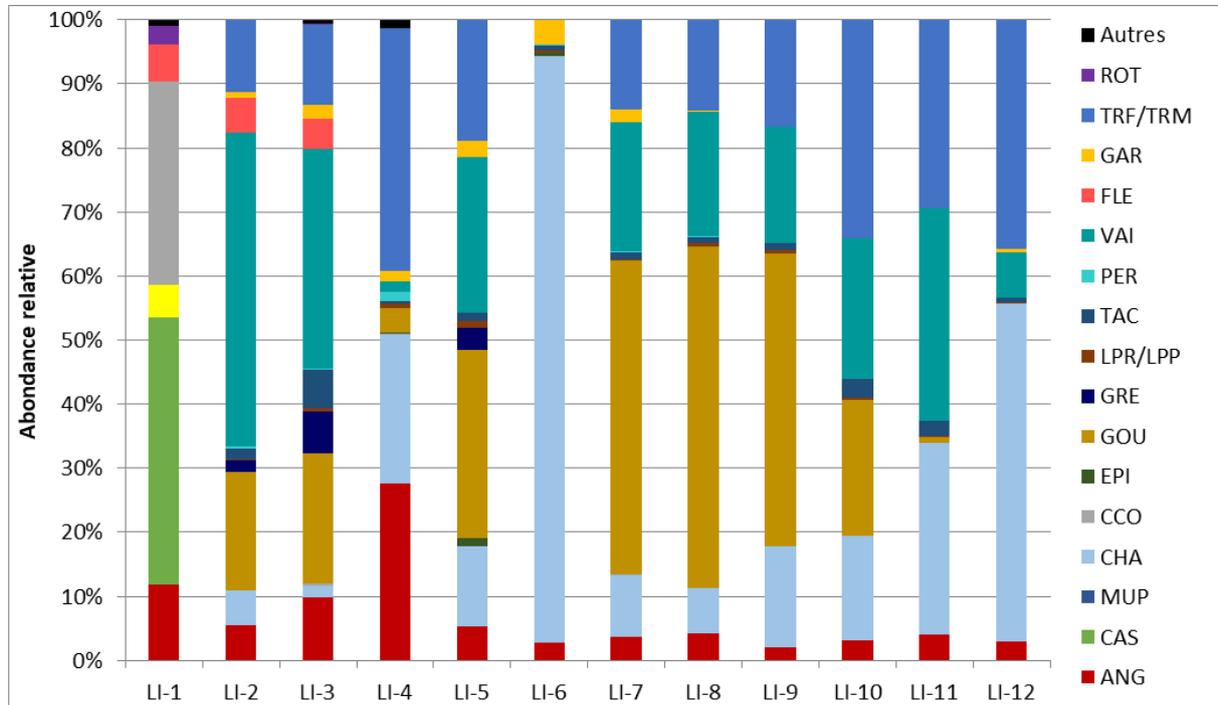
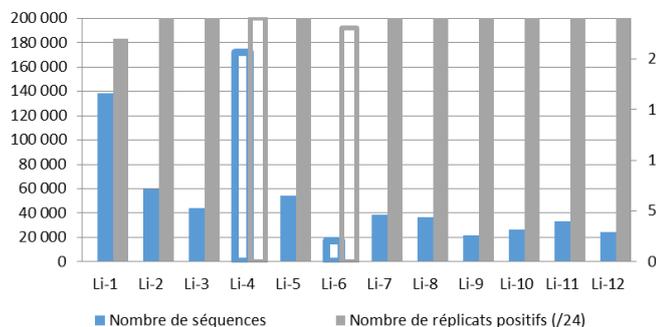


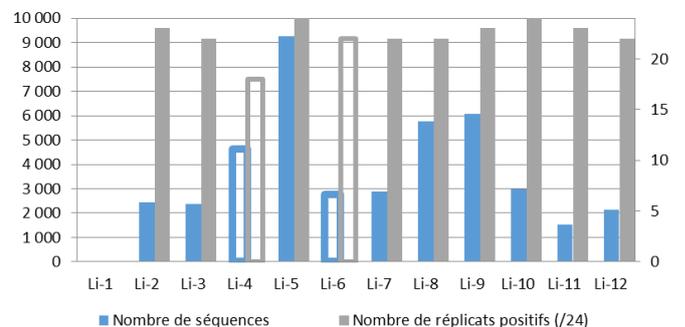
Figure 23 : Abondance relative du nombre de séquence ADN de chaque espèce détectée, pour l'ensemble des stations

L'analyse longitudinale peut présenter un intérêt particulier pour les espèces migratrices. La Figure 24 représente l'évolution sur l'axe Liane du nombre de séquences d'ADN retrouvé par station, ainsi que le nombre de réplicas positifs, pour l'Anguille (*Anguilla anguilla*), les Lamproies (*Lampetra sp.* : Lamproies de rivière et de Planer) et la Truite (*Salmo trutta* : Truite fario et Truite de mer).

a. Anguille



b. Lamproies



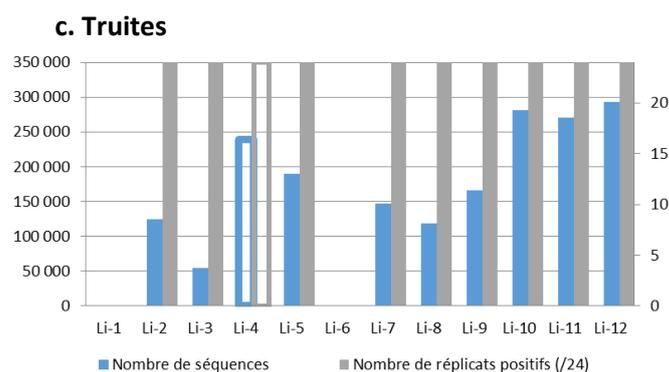


Figure 24 : Nombre de séquence d'ADN a. : d'Anguille (*Anguilla anguilla*) ; b. : de Lamproie de rivière et de Planer (*Lampetra sp*) ; c. : de Truite fario ou Truite de mer (*Salmo trutta*), et le nombre de répliquats positifs correspondant pour l'ensemble des stations de l'axe Liane (barres d'histogramme pleines) et affluent (barres d'histogramme ajourées).

IV.2. Approche mono-spécifique sur l'écrevisse à pattes blanches (*Austropotamobius pallipes*)

L'ADN d'écrevisse à pattes blanches (*Austropotamobius pallipes*) n'a été détecté sur aucune des deux stations, Li-4 et Li-12, où la technique d'analyse de l'ADN dite mono-spécifique a été déployée.

Site	Détection de l'ADN de l'Écrevisse à pattes blanches	Nombre de répliquats positifs
Li-4	NON	0/12
	NON	0/12
Li-12	NON	0/12
	NON	0/12

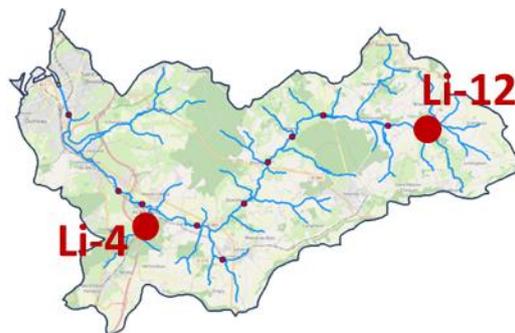


Figure 25 : Résultats de l'analyse mono-spécifique sur l'écrevisse à pattes blanches (*Austropotamobius pallipes*)

V. Discussion & Perspectives

► Comparaison avec les données de pêches à l'électricité

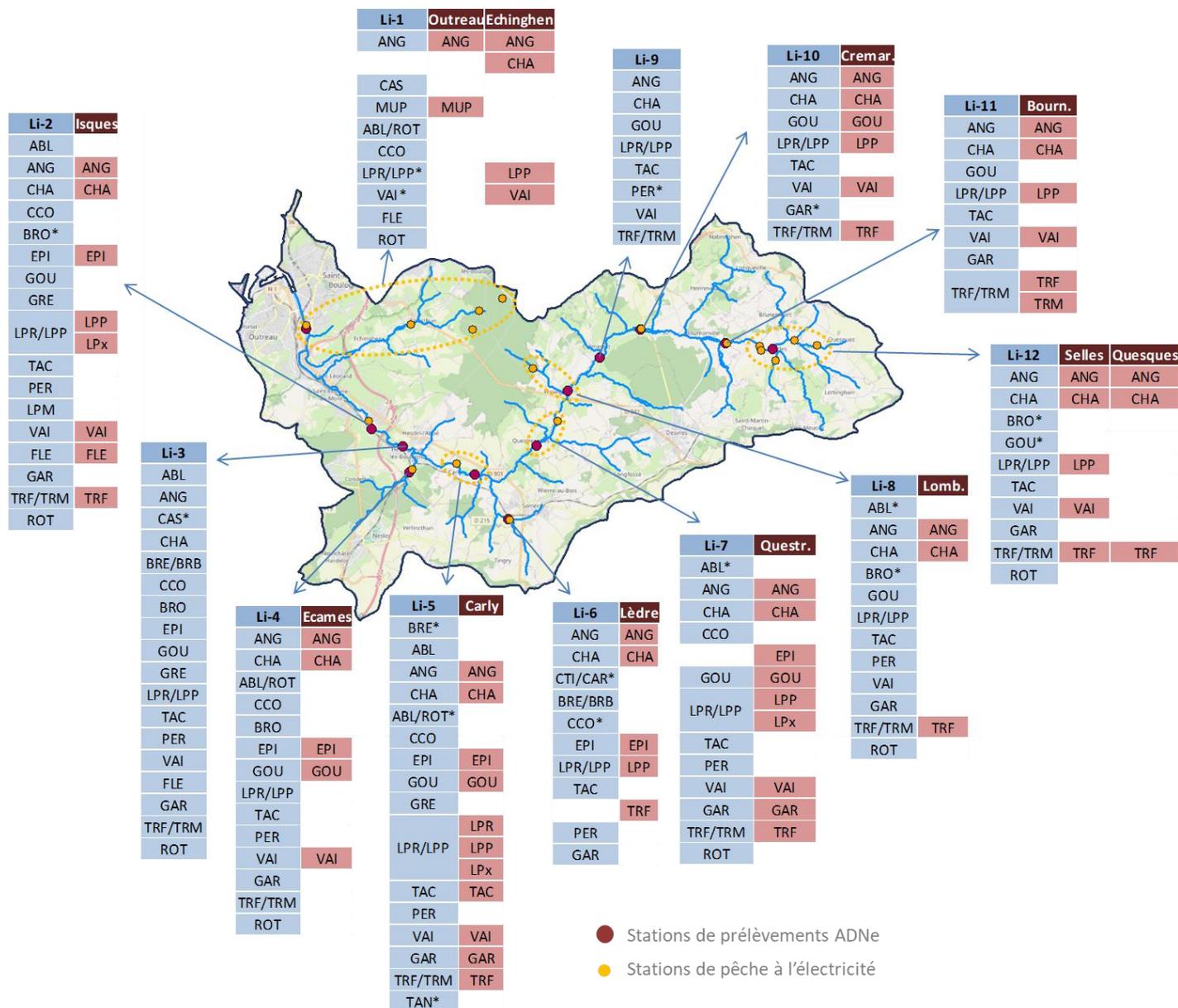


Figure 26 : Représentation cartographique schématique des listes de taxons obtenues à l'aide de l'ADNe par station, et par pêche électrique sur les stations à proximité

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

Les résultats des différentes opérations de pêche électrique réalisées sur le bassin de la Liane ont été recueillis (détail des opérations et des résultats en annexe 3 et 4). La Figure 26 présente les listes de taxons obtenues lors des différentes opérations de pêche électrique en parallèle avec les listes de taxons issues de l'analyse de l'ADNe sur les stations les plus proches.

Il est à noter que ces résultats reposent sur assez peu d'opérations de pêche (33 opérations), et que la plupart ne sont pas des pêches d'inventaire complet, mais des pêches stratifiées ou ciblant une espèce particulière (19 opérations sur 33 correspondent à des pêches ciblées sur l'anguille). Toutefois, il en ressort que l'ADNe permet de mettre en évidence la présence d'un plus grand nombre de taxons que les opérations de pêche (33% de diversité en plus sur les stations comparables).

Certains taxons ont été détectés via l'ADNe sur la plupart des stations alors qu'ils sont rarement contactés en pêche électrique (Goujon, Truite arc-en-ciel, Gardon, Rotengle). D'autres taxons ont été mis en évidence par les prélèvements d'ADN alors qu'ils n'apparaissent dans aucuns résultats de pêche d'inventaire recensée sur le bassin de la Liane. Il s'agit de l'Ablette, de la Carpe commune, du Brochet, de la Grémille, de la Perche, ainsi que de la Lamproie marine. Cela peut être mis en lien avec leurs faibles effectifs, ainsi qu'avec les caractéristiques intrinsèques de certaines espèces les rendant plus difficiles à intercepter en pêche à l'électricité.

A l'inverse, peu de taxons ont été contactés lors d'inventaires à l'électricité et n'ont pas été retrouvés lors des prélèvements ADN. Sur la station Liane-7, aucune séquence d'ADN d'Épinoche n'a été détectée alors qu'elle a déjà été mise en évidence sur le secteur via la pêche électrique. On suppose que cette station constitue la limite amont de son aire de répartition dans la mesure où elle est communément retrouvée en aval, que ce soit en pêche électrique ou via les analyses de l'ADNe, alors qu'elle n'est plus retrouvée en amont. Sur la rivière Lèdre (Li-6), les analyses n'ont pas permis de détecter d'ADN de Truite fario, alors que celle-ci y aurait déjà été contactée lors de pêche à l'électricité. Il est cependant à noter que sa présence en pêche à l'électricité n'a été relevée qu'une seule fois en opérations de pêche, et qu'elle remonte à l'année 2012. La carte n°15 de l'atlas cartographique du PDPG (Plan Départemental pour la Protection des milieux aquatiques et la Gestion des ressources piscicoles du Pas-de-Calais, 2018-2022) présentant la distribution spatiale de la Truite fario dans le département, stipule que l'espèce est absente sur de nombreux tronçons de tête de bassin, et notamment sur la partie amont de la rivière Lèdre. Cette carte réalisée par une modélisation en fonction des variables influençant la distribution spatiale de l'espèce et ajustée à dire d'expert en fonction des connaissances de terrain, localisait toutefois la limite du linéaire fréquenté par la Truite fario légèrement plus en amont.

► Comparaison avec les données du réseau de suivi anguille

Dans le cadre du réseau de pêche spécifique anguille réalisé par la fédération, les populations d'anguilles du contexte Liane sont suivies tous les trois ans. Pour ce faire, des pêches à l'électricité de type EPA (Echantillonnage Ponctuel d'Abondance) sont effectuées sur quatre stations réparties sur le tronçon Liane, ainsi que sur deux stations situées sur des affluents. Sur les trois campagnes réalisées depuis 2012, les abondances d'Anguille diminuent sur un gradient aval/amont (Figure 27). Le même gradient est observé sur le nombre de séquences d'ADN retrouvées dans les prélèvements. Ce paramètre reste toutefois une donnée à analyser avec

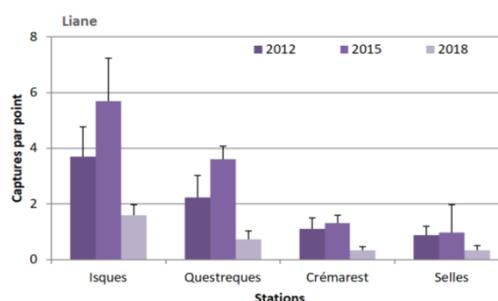


Figure 27 : CPUE (Nombre d'Anguille par point) pour les 4 stations de l'axe Liane échantillonnée dans le cadre du Réseau de Suivi Anguille lors des différentes campagnes

précaution. Il n'est en effet pas réaliste de l'assimiler à une abondance, au vu des différents facteurs influents. Cependant, le fait que l'ADN de l'espèce ait été retrouvé sur la totalité des répliques, témoigne d'une présence non négligeable.

► **Comparaison avec les données des suivis de nids de ponte**

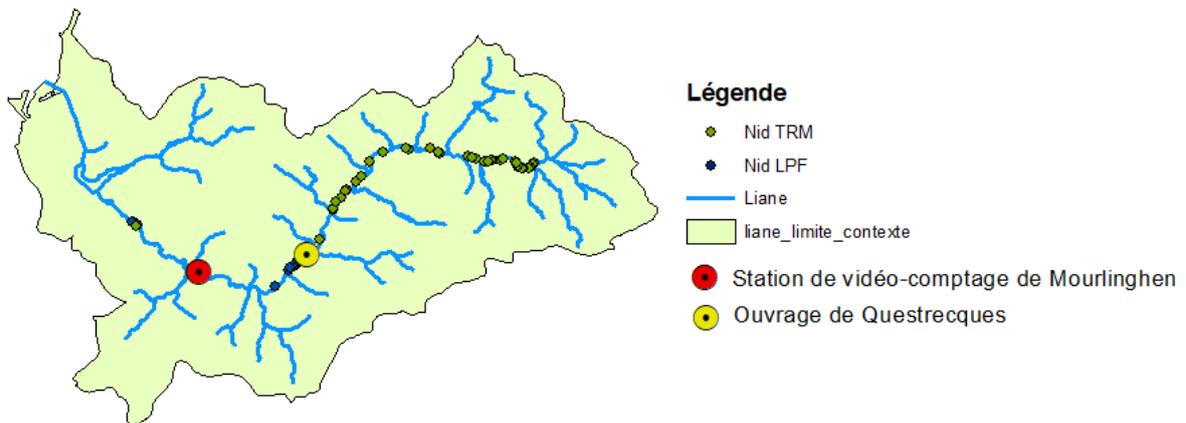


Figure 28 : Localisation des frayères à lamproie fluviatile et à truite de mer recensées de 2017 à 2019 sur la Liane

La colonisation du cours d'eau par les migrateurs est visible via notamment le suivi des nids de ponte, réalisés en janvier pour les grands salmonidés, en avril pour les Lamproies fluviatiles et de mi-mai à juin pour les Lamproies marines.

On voit sur la Figure 28 que des nids de ponte de Lamproie fluviatile sont observés jusqu'à l'ouvrage de Questrecques actuellement infranchissable pour cette espèce, et qui constitue alors le front de migration. Des séquences d'ADN du genre *Lampetra*, regroupant la Lamproie fluviatile et la Lamproie de Planer, ont été détectées sur la quasi-totalité des stations (hormis la plus aval). Il semblerait alors que les séquences retrouvées en amont de l'ouvrage (Li-8 à Li-12) ne correspondent qu'à la Lamproie de Planer, tandis que les deux espèces sont susceptibles d'avoir été détectées sur les autres stations (Li-2 à Li-7).

En ce qui concerne la Lamproie marine, sa présence est avérée sur le bassin depuis 2017, grâce à des captures vidéo au niveau de la station de vidéo-comptage des migrateurs de Mourlinghen, cependant aucune frayère n'a encore été observée sur le contexte Liane. Au vu du peu d'individus vidéo-comptés (1 à 2 par an), il est possible qu'il n'y ait pas de frai effective sur le bassin. Il est également possible que cette absence d'observation de frayère soit liée à la difficulté de repérer un nid, du fait de leur rareté et de la longueur importante du linéaire de prospection.

C'est dans ce sens que l'ADNe peut être un outil très utile, permettant de cibler les zones de prospection. L'ADN de Lamproie marine n'a été détecté uniquement au niveau de la station Liane-2 sur la commune d'Isques. Sa présence à toutefois été avérée plus en amont au niveau de la station de vidéo-comptage de Mourlinghen, à 5,4km en amont. Un passage a été enregistré le 13 juin 2020, soit 13 jours avant les prélèvements d'ADN.



Figure 29 : Capture de la vidéo du passage d'une lamproie marine au riverwatcher de Mourlinghen sur la Liane, le 13 juin 2020

Deux hypothèses sont alors envisagées. Soit la lamproie vidéo-comptée aurait dévalé et son ADN aurait été prélevé. Soit elle aurait continué sa montaison sans que le flux de son ADN ne soit capté en amont. Les séquences retrouvées au niveau de la station Liane-2 proviendraient alors d'autres individus. En outre, le signal d'ADN reste relativement faible (3 répliques positifs sur 24), et nous aurions probablement pu passer à côté de cette information, si le prélèvement avait été légèrement décalé.

Il est important de noter que l'absence de détection d'ADN, ne signifie pas forcément l'absence de l'espèce, comme ce fût le cas, par exemple, sur l'Hérault où les prélèvements effectués par la FDPMA n'avait pas permis de détecter la lamproie marine tandis qu'un individu avait franchi la passe à poissons de Bladier-Ricard (Ravel, 2019 ; Ravel et Haddad, 2019). La mise en évidence de la présence de la lamproie marine via l'ADNe apparait alors encore compliquée et plus hasardeuse que pour d'autres espèces bien que la période de prélèvement ait été spécifiquement choisie en fin de période de reproduction, afin d'optimiser les chances de capter de leur ADN. Celui-ci pouvant être émis à la fois par les fèces des ammocètes, par les gamètes lors de la reproduction mais également lors de la décomposition du corps des individus morts suite au frai.

La méthode d'analyse de l'ADN multi-spécifique dite « metabarcoding » présente l'inconvénient d'être moins précise avec les espèces rares ; les espèces dont l'ADN est le plus abondant pouvant occulter les espèces dont l'ADN est plus faiblement représenté. La méthode mono-spécifique dite « barcoding » permet de détecter des espèces cibles avec une plus grande précision, malheureusement il n'existe pas à l'heure actuelle d'amorce spécifique pour la détection de la lamproie marine.

Concernant les Truites fario et les Truites de mer, l'ADN de ces deux écotypes est semblable. La Truite fario est présente sur 85 % du contexte Liane, bien que la productivité y soit faible (4,3 truite fario/100m² - Atlas cartographique du PDPG 2.0 – Carte n°16 et 17). La Figure 28 nous montre que la Truite de mer colonise la quasi-totalité de l'axe Liane, jusqu'à la commune de Selles. L'ADN de truite détecté sur l'ensemble des stations peut donc correspondre aussi bien à des Truites fario qu'à des Truites de mer. Il semblerait toutefois qu'il corresponde d'avantage aux Truites fario, ou à des smolts de truite de mer, dans la mesure où à la date des prélèvements, seules 4 Truites de mer avaient franchi le dispositif de comptage de Mourlinghen.

► **Entrave à la continuité écologique : l'ouvrage Marguet**

Le barrage estuarien de Marguet situé dans le port de Boulogne-sur-mer assure en théorie la libre circulation piscicole via une gestion automatisée des vannes (ouverture d'une des deux vannes à chaque marée haute entre 0 et 2H, en fonction des coefficients de marée).

Comme le montre la Figure 30, les manœuvres des vannes ne sont pas toujours assurées. En lien avec la crise sanitaire du Covid-19, aucune manœuvre des portes de l'ouvrage à la mer, ainsi

qu'aucun sasement de l'écluse, n'a eu lieu du 9 mars 2020 au 18 mai 2020. La circulation piscicole n'était alors pas possible durant cette période. Une autre longue période de fermeture s'est opérée du 29 mai au 31 août 2020 notamment pour permettre de conserver un tirant d'eau suffisant (bassin amont Frédéric Sauvage) et acceptable pour assurer les usages de navigation dans celui-ci. La libre circulation piscicole n'était alors pas assurée, et la remontée des poissons n'était possible que lors du passage d'un bateau entre le port et la mer, via le sas de l'écluse.

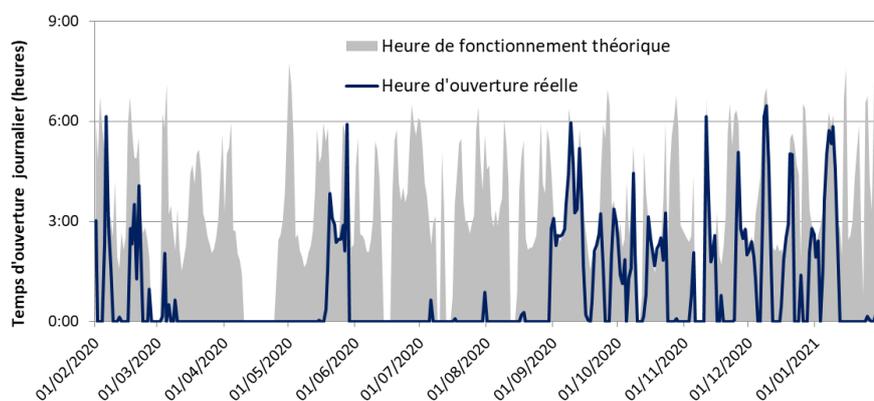


Figure 30 : Temps théorique et effectif d'ouverture journalier des vannes de l'ouvrage Marguet pour l'année 2020

L'impact négatif de ces fermetures prolongées a été avéré sur la dynamique de migration des Truites de mer, via le suivi au niveau du dispositif de vidéo-comptage de Mourlinghen. La montaison des autres espèces migratrices (Anguille, Lamproie marine et fluviatile, Alose) a donc, *a fortiori*, été également impactée.

► L'écrevisse à pattes blanches (*Austropotamobius pallipes*)

Les analyses monospécifiques menées sur le contexte Liane (sur le ruisseau et d'Ecames, et sur la Liane à Selles) n'ont pas permis de mettre en évidence la présence de l'écrevisse à pattes blanches.

Il est important de préciser que l'absence de détection de l'ADN de cette espèce n'indique pas obligatoirement son absence sur le contexte. En effet, du fait de la présence de leur carapace chitineuse, les écrevisses libèrent beaucoup moins d'ADN que d'autres individus, comme les poissons par exemple (Tréguier et al., 2014), ce qui rend leur flux ADN plus difficile à capter, et ce d'autant plus que seuls deux prélèvements ciblés ont été effectués.

VI. Conclusion

L'ADN environnemental est une méthode innovante, largement éprouvée au cours de cette dernière décennie, et en pleine expansion. Elle constitue un outil de détection et de veille environnementale formidable, dont la mise en œuvre est simple et non intrusive, permettant de produire des listes faunistiques, mais également de mettre en exergue la présence d'espèces exotiques ou d'espèces patrimoniales rares.

Les analyses monospécifiques ciblées sur l'écrevisse à pattes blanches n'ont pas permis de mettre en évidence sa présence sur le contexte Liane.

Concernant le compartiment piscicole, 21 taxons différents ont été contactés, dont 7 espèces patrimoniales, et il ressort des listes faunistiques obtenues une diversité nettement plus importante à celle historiquement établie lors des différentes opérations de pêche à l'électricité.

La Lamproie marine dont la présence est avérée sur la Liane seulement depuis 2017 a été détectée au niveau de la commune d'Isques (Station Liane-2), tandis qu'un individu avait été vidéo-compté au niveau de Mourlinghen, soit plus en amont, 13 jours avant les prélèvements. Il est possible que le signal ADN ait été accru au niveau de la station 2 suite à de la fraie à proximité du point de prélèvement. La prospection de ce secteur sera donc accentuée lors des prochaines campagnes de suivi de nids de ponte.

Il est à noter également que les manœuvres de l'ouvrage à la mer (le barrage Marguet à Boulogne-sur-Mer) par lequel les migrateurs amphihalins sont contraints de transiter, conditionne fortement le nombre de remontées. En lien avec la crise du covid-19, la libre circulation piscicole n'a pas été assurée de mars à mai, puis de manière non-optimale jusqu'à la fin de la saison estivale. La montaison de l'ensemble des espèces migratrices a donc été impactée en 2020.

En définitive, ce protocole constitue un outil pertinent pour compléter les autres suivis en place, et son déploiement a permis l'apport de données biologiques intéressantes. Il pourrait cependant être intéressant de programmer une nouvelle campagne de prélèvements lorsque les vannes de l'ouvrage Marguet seront manœuvrées de manière adéquate.

VII. Bibliographie & webographie

Articles L411-1 et 2 du Code de Environnement Arrêté du 18 janvier 2000 modifiant l'arrêté du 21 juillet 1983 relatif à la protection des écrevisses autochtones.

Collas M., Burgun V., Grandjean F., Poulet N., Penil C., 2014. La situation des écrevisses en France – Résultats de l'enquête nationale 2014, Onema. 21p.

Ficetola G.F., Miaud C., Pompanon F., Taberlet P., 2008. Species detection using environmental DNA from water samples. *Biology Letters*, 4:423-425.

Jean P., 2013. La détection des espèces par l'adn environnemental, 72p.

Laurent P.J., Sussillon M., 1962. Les écrevisses en France. *Annales Station Centrale Hydrobiologie Appliquée*, 9 : 333-395 + 2pl.

ONEMA, 2016. L'enquête nationale sur les écrevisses. Fiche technique pour les acteurs du système d'information sur l'eau. 21p.

Pawlowski J., Apothéloz-Perret-Gentil L., Mächler E., Altermatt F., 2020: Utilisations de l'ADN environnemental pour la surveillance et l'évaluation biologiques des écosystèmes aquatiques. Directives. Office fédéral de l'environnement, Berne. *Connaissance de l'environnement* no 2010 : 80p.

PDPG 2.0 du Pas-de-Calais 2018/2022. Plan Départemental pour la Protection des milieux aquatiques et la Gestion des ressources piscicoles du Pas-de-Calais, 2018-2022. FDAAPPMA 62 ; 115p.

PLAGEPOMI du bassin Artois-Picardie 2015-2021. Plan de Gestion des Poissons Migrateurs du bassin Artois-Picardie. DREAL Hauts de France. 167p.

Poulet N., Basilico L., 2019. L'ADN environnemental pour l'étude de la biodiversité. État de l'art et perspectives pour la gestion. Agence française pour la biodiversité. Collection *Rencontres-Synthèse*. 72p.

Puissauve R., Collas, M., Grandjean F., 2015. Fiches d'information sur les espèces aquatiques protégées : Écrevisse à pattes blanches, *Austropotamobius pallipes* (Lereboullet, 1857). Service du patrimoine naturel du MNHN & Onema

RAVEL E., 2019, Suivi migrateurs par analyse d'ADNe environnemental sur la basse vallée de l'Hérault - Résultats 2019, 8p.

RAVEL E., HADDAD A., 2019, Suivi vidéo des passages de poissons migrateurs dans la passe à poissons de Bladier-Ricard sur le fleuve Hérault - Campagne 2019, 34p + annexes

Taberlet P., Coissac E., Hajibabaei M., Rieseberg L.H., 2012. Environmental DNA. *Molecular Ecology*, 21:1789-1793.

UICN Comité français, MNHN, SFI & AFB, 2019. La Liste rouge des espèces menacées en France – Chapitre Poissons d’eau douce de France métropolitaine. Paris, France. 16p.

UICN France & MNHN, 2014. La Liste rouge des espèces menacées en France - Chapitre Crustacés d’eau douce de France métropolitaine. Paris, France.Photo

Verneaux J., 1977. Biotypologie de l'écosystème "eau courante". Détermination approchée de l'appartenance biotypologique.. C.R Acad Sc. Paris série D 284: pp 675-678

<https://www.hydro.eaufrance.fr/>

VIII. Annexes

Annexe 1 : Coordonnées des stations de prélèvements

Station	Coordonnées (Lambert 93)	
	x	y
Liane-1	601672	7068663
Liane-2	603256	7065717
Liane-3	605838	7063521
Liane-4	605898	7062367
Liane-5	608819	7062314
Liane-6	610239	7060386
Liane-7	611493	7063529
Liane-8	612843	7065906
Liane-9	614251	7067324
Liane-10	615807	7068515
Liane-11	619219	7068002
Liane-12	621617	7067638

Annexe 2 : Evolution de la répartition de l'écrevisse à pattes blanches en France de 1977 à 2006. Source: ONEMA



Annexe 3 : Tableau récapitulatif des prélèvements – Fichier terrain transmis à Spygen

Code SPYGEN	Code du site	Nom du site	Date d'échantillonnage	Type de kit (Louche /Tuyau)	Réplikat terrain 1 ou 2 (si existant)	Durée filtration (Kit tuyau)	Volume filtré (Kit louche)	Nom du préleveur	Espèces / groupes taxonomiques recherchés
SPY202099	LIANE-12	LIANE-12	24/06/2020	Tuyau	1	30'23"	/	L.MUNCH	Toutes espèces / APP
SPY202103	LIANE-12	LIANE-12	24/06/2020	Tuyau	2	30'30"	/	L.MUNCH	Toutes espèces / APP
SPY202105	LIANE-11	LIANE-11	24/06/2020	Tuyau	1	30'14"	/	B.RIGAULT	Toutes espèces
SPY202077	LIANE-11	LIANE-11	24/06/2020	Tuyau	2	30'20"	/	L.MUNCH	Toutes espèces
SPY202102	LIANE-10	LIANE-10	24/06/2020	Tuyau	1	30'20"	/	L.MUNCH	Toutes espèces
SPY202104	LIANE-10	LIANE-10	24/06/2020	Tuyau	2	30'30"	/	B.RIGAULT	Toutes espèces
SPY202097	LIANE-9	LIANE-9	24/06/2020	Tuyau	1	30'25"	/	L.MUNCH	Toutes espèces
SPY202098	LIANE-9	LIANE-9	24/06/2020	Tuyau	2	30'53"	/	B.RIGAULT	Toutes espèces
SPY202086	LIANE-8	LIANE-8	25/06/2020	Tuyau	1	30'23"	/	L.MUNCH	Toutes espèces
SPY202091	LIANE-8	LIANE-8	25/06/2020	Tuyau	2	30'37"	/	B.RIGAULT	Toutes espèces
SPY202093	LIANE-7	LIANE-7	25/06/2020	Tuyau	1	30'33"	/	L.MUNCH	Toutes espèces
SPY202094	LIANE-7	LIANE-7	25/06/2020	Tuyau	2	30'48"	/	B.RIGAULT	Toutes espèces
SPY202095	LIANE-5	LIANE-5	25/06/2020	Tuyau	1	30'38"	/	L.MUNCH	Toutes espèces
SPY202096	LIANE-5	LIANE-5	25/06/2020	Tuyau	2	30'43"	/	B.RIGAULT	Toutes espèces
SPY202100	LIANE-6	LIANE-6	25/06/2020	Tuyau	1	30'17"	/	L.MUNCH	Toutes espèces
SPY202092	LIANE-6	LIANE-6	25/06/2020	Tuyau	2	30'19"	/	B.RIGAULT	Toutes espèces
SPY202089	LIANE-1	LIANE-1	26/06/2020	Tuyau	1	30'43"	/	L.MUNCH	Toutes espèces
SPY202090	LIANE-1	LIANE-1	26/06/2020	Tuyau	2	30'31"	/	B.RIGAULT	Toutes espèces
SPY202087	LIANE-2	LIANE-2	26/06/2020	Tuyau	1	30'38"	/	L.MUNCH	Toutes espèces
SPY202088	LIANE-2	LIANE-2	26/06/2020	Tuyau	2	30'08"	/	B.RIGAULT	Toutes espèces
SPY202083	LIANE-3	LIANE-3	26/06/2020	Tuyau	1	30'48"	/	L.MUNCH	Toutes espèces
SPY202084	LIANE-3	LIANE-3	26/06/2020	Tuyau	2	30'51"	/	B.RIGAULT	Toutes espèces
SPY202082	LIANE-4	LIANE-4	26/06/2020	Tuyau	1	30'33"	/	L.MUNCH	Toutes espèces / APP
SPY202085	LIANE-4	LIANE-4	26/06/2020	Tuyau	2	30'23"	/	B.RIGAULT	Toutes espèces / APP

**Annexe 4 : Détail des différentes opérations de pêche électrique réalisées sur le contexte
Liane entre 2009 et 2019**

Cours d'eau	Commune	Date	Coordonnées		Organisme	Type de pêche	
Rau d'Echinghen	Baincthun	08/07/2009	555943	2635788	FD62	Complète - 2 passages	
		02/07/2009	555659	2634951	FD62	Complète - 2 passages	
		02/07/2009	556932	2636305	FD62	Complète - 2 passages	
		01/08/2012	553013	2633189	FD62	Pêche spécifique anguille *	
		09/10/2015	553013	2633189	FD62	Pêche spécifique anguille *	
		06/09/2018	553013	2633189	FD62	Pêche spécifique anguille *	
Ru d'Ecames	Hesdigneul-les-B.	05/06/2013	553094	2628942	Priofish	Complète - 1 passage	
Lèdre	Samer	02/08/2012	557248	2626768	FD62	Pêche spécifique anguille *	
		11/09/2015	557248	2626768	FD62	Pêche spécifique anguille *	
		05/09/2018	557248	2626768	FD62	Pêche spécifique anguille *	
La lombarderie	Baincthun	02/07/2009	558236	2633300	FD62	Complète - 2 passages	
Liane	Outreau	08/08/2012	548535	2635141	FD62	Pêche spécifique anguille *	
	Isque	02/08/2012	551212	2631003	FD62	Pêche spécifique anguille *	
		09/09/2015	551212	2631003	FD62	Pêche spécifique anguille *	
		08/09/2018	551212	2631003	FD62	Pêche spécifique anguille *	
		Carly	20/05/2010	554979	2629170	ONEMA	Stratifiée par point
	31/08/2011		554979	2629170	ONEMA	Stratifiée par point	
	27/08/2013		554979	2629170	ONEMA	Stratifiée par point	
	12/10/2015		554979	2629170	ONEMA	Stratifiée par point	
	Questrecques	01/08/2012	559293	2631003	FD62	Pêche spécifique anguille *	
		10/09/2015	559293	2631003	FD62	Pêche spécifique anguille *	
		05/09/2018	559293	2631003	FD62	Pêche spécifique anguille *	
	Cremarest	01/08/2012	562895	2634995	FD62	Pêche spécifique anguille *	
		09/09/2015	562895	2634995	FD62	Pêche spécifique anguille *	
		05/09/2018	562895	2634995	FD62	Pêche spécifique anguille *	
	Bournonville		07/10/2019	566553	2634360	FD62	Complète - 2 passages
	Selles		01/08/2012	568006	2634070	FD62	Pêche spécifique anguille *
			11/09/2015	568006	2634070	FD62	Pêche spécifique anguille *
			12/09/2018	568006	2634070	FD62	Pêche spécifique anguille *
			05/06/2013	569432	2634484	Priofish	Complète - 1 passage
			05/06/2013	568640	2633622	Priofish	Complète - 1 passage
			12/09/2019	567939	2634245	FD62	Complète - 2 passages
	Quesques		11/06/2012	570395	2634271	Priofish	Complète - 1 passage

* Lors des pêches spécifiques anguilles (EPA30 ou 75 point) les autres taxons sont indiqués en terme de présence/absence

Annexe 5 : Résultats en termes de présence/absence des différentes opérations de pêche électrique réalisées sur le contexte Liane entre 2009 et 2019

			Liane																						
			Outreau	Isques				Carly				Questrecques			Cremarest			Bournon	Selles						Quesques
			2012	2012	2015	2018	2010	2011	2013	2015	2012	2015	2018	2012	2015	2018	2019	2012	2015	2018	2013	2013	2013	2019	2012
Anguille	ANG	<i>Anguilla anguilla</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Mulet porc	MUP	<i>Chelon ramada</i>	X																						
Chabot	CHA	<i>Cottus gobio</i>		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Epinoche	EPI	<i>Gasterosteus aculeatus</i>		X		X		X	X			X	X												
Goujon	GOU	<i>Gobio sp.</i>					X	X	X	X		X		X	X										
Lamproie de rivière	LPR	<i>Lampetra fluviatilis</i>								X															
Lamproie de Planer	LPP	<i>Lampetra planeri</i>		X			X	X	X	X		X			X	X		X		X				X	
Lamproie ind.	LPx	<i>Lampetra sp.</i>				X			X			X													
Truite Arc-en-ciel	TAC	<i>Onchorynchus mykiss</i>					X	X	X																
Vairon	VAI	<i>Phoxinus phoxinus</i>		X	X	X		X	X	X		X	X		X	X	X	X	X					X	
Flet	FLE	<i>Pleuronectidae</i>	X	X	X	X																			
Gardon	GAR	<i>Rutilus rutilus</i>							X		X														
Truite Fario	TRF	<i>Salmo trutta fario</i>		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Truite de mer	TRM	<i>Salmo trutta trutta</i>														X									

			Rau d'Echinghen						Ru d'Eca-mes	Lèdre			La lomb-arderie
			Baincthun						Hesdi.	Samer			Bainct.
			2009	2009	2009	2012	2015	2018	2013	2012	2015	2018	2009
Anguille	ANG	<i>Anguilla anguilla</i>	X					X	X	X	X	X	X
Mulet porc	MUP	<i>Chelon ramada</i>											
Chabot	CHA	<i>Cottus gobio</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Epinoche	EPI	<i>Gasterosteus aculeatus</i>							X		X	X	
Goujon	GOU	<i>Gobio sp.</i>							X				
Lamproie de rivière	LPR	<i>Lampetra fluviatilis</i>											
Lamproie de Planer	LPP	<i>Lampetra planeri</i>	X							X		X	
Lamproie ind.	LPx	<i>Lampetra sp.</i>											
Truite Arc-en-ciel	TAC	<i>Onchorynchus mykiss</i>											
Vairon	VAI	<i>Phoxinus phoxinus</i>				X	X	X	X				
Flet	FLE	<i>Pleuronectidae</i>											
Gardon	GAR	<i>Rutilus rutilus</i>											
Truite Fario	TRF	<i>Salmo trutta fario</i>								X			X
Truite de mer	TRM	<i>Salmo trutta trutta</i>											