



Analyse de l'ADN environnemental

- Contexte Wimereux -

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 des enjeux	4
II.1. Le contexte Wimereux	4
II.2. Les objectifs.....	5
II.3. Les principales espèces à enjeux.....	5
II.3.1. Les grands migrateurs	5
II.3.2. L'écrevisse à pattes blanche	8
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 du Wimereux	15
IV.1.2. Analyse stationnelle	17
IV.1.3. Evolution longitudinale	23
IV.2. Approche mono-spécifique sur l'écrevisse à pattes blanches (<i>Austropotamobius pallipes</i>)	25
V. Discussion & Perspectives	27
VI. Conclusion	31
VII. Bibliographie & webographie	32
VIII. Annexes.....	33

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.....	6
Figure 4 : Photographies d'une Lamproie marine (à gauche) et de Lamproies fluviatiles (à droite).....	7
Figure 5 : Photographie d' <i>Austropotamobius pallipes</i> (©David Gerke).....	8
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 9 stations de prélèvements sur le Wimereux et ses affluents.....	13
Figure 10 : Résultats de la station Wimereux-1.....	17
Figure 11 : Résultats de la station Wimereux-2.....	18
Figure 12 : Résultats de la station Wimereux-3.....	19
Figure 13 : Résultats de la station Wimereux-4.....	20
Figure 14 : Résultats de la station Denâcre.....	21
Figure 15 : Résultats de la station Grigny.....	22
Figure 16 : Représentation cartographique schématique des listes de taxons obtenues à l'aide de l'analyse de l'ADNe par station.....	23
Figure 17 : Abondance relative du nombre de séquence ADN de chaque espèce détectée, pour l'ensemble des stations.....	24
Figure 18 : 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>), et le nombre de répliquas positifs correspondant pour l'ensemble des stations de l'axe Wimereux et affluents.....	25
Figure 19 : Résultats de l'analyse mono-spécifique sur l'écrevisse à pattes blanches (<i>Austropotamobius pallipes</i>).....	26
Figure 20 : Représentation cartographique schématique des listes de taxons obtenues à l'aide de l'ADNe (en rouge) par station, et par pêche électrique (en bleu) sur les stations à proximité.....	27
Figure 21 : CPUE (Nombre d'Anguille par point) pour les 3 stations de l'axe Wimereux et les 2 stations sur les affluents échantillonnées dans le cadre du Réseau de Suivi Anguille lors des différentes campagnes.....	29
Figure 22 : Localisation des frayères à lamproie fluviatile et à truite de mer recensées de 2013 à 2015 sur le Wimereux.....	30
Tableau 1 : Récapitulatif des mesures de gestion du PLAGEPOMI dans lesquels s'inscrit cette étude.....	5
Tableau 2 : Sites de prélèvements.....	12
Tableau 3 : Limites d'identification de certains taxons.....	14
Tableau 4 : Liste des espèces piscicoles détectées par l'analyse de l'ADNe sur le bassin du Wimereux.....	15
Tableau 5 : Tendances globales de la population piscicole du Wimereux et de ses affluents obtenues via l'analyse de l'ADNe.....	16
Tableau 6 : Listes des espèces patrimoniales détectées sur le contexte Wimereux, et leurs statuts de conservation.....	16
Tableau 7 : Récapitulatif des taxons détectés par station.....	24

I. Introduction

Le Wimereux est l'un des trois fleuves côtiers qui constituent le bassin du Boulonnais, situé au sud de la Slack et au nord de la Liane. Il est fréquenté par plusieurs espèces de poissons amphihalins, qui nécessitent de pouvoir migrer entre la manche et l'amont du bassin afin de réaliser l'ensemble de leur cycle biologique. Ces déplacements sont souvent rendus difficiles voire impossibles, par les obstacles à la continuité écologique (barrages, seuils). La fonctionnalité écologique du contexte Wimereux est jugée très perturbée par la présence d'obstacles à la continuité écologique. Ce fleuve possède un potentiel d'accueil et de production plus limité que les autres fleuves du Boulonnais, et une mauvaise qualité physico-chimique.

Dans un souci d'amélioration de la connaissance, conformément au PDPG 2.0 du Pas-de-Calais (Plan Départemental pour la Protection des milieux aquatiques et la Gestion des ressources piscicoles du Pas-de-Calais, 2018-2022) et au PLAGEPOMI Artois-Picardie (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 et de Protection du Milieu Aquatique du Pas-de-Calais en juin/juillet 2021, avec la réalisation d'inventaires piscicoles sur le bassin du Wimereux 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.

II. Présentation du contexte et des enjeux

II.1. Le contexte Wimereux

Le Wimereux est l'un des trois fleuves côtiers qui constitue le bassin du Boulonnais. D'une longueur de 23 km (49 km avec les affluents), il prend sa source à Colembert et se jette dans la Manche au niveau de la commune de Wimereux. La topographie marquée de ce bassin ainsi que le caractère imperméable de ses sols, confèrent un régime quasi torrentielle aux cours d'eau en période de crue, et des écoulements faibles en période sèche. Son débit moyen est seulement de 1,03 m³/s (hydro.eaufrance.fr). La fonctionnalité du contexte Wimereux est très perturbée au vu de la présence d'obstacles à la continuité écologique dégrade la qualité des habitats et limite l'accès des poissons migrateurs vers leurs zones de frai. La mauvaise qualité physico-chimique de l'eau constitue également une pression importante sur le milieu, lié notamment à un déficit important d'assainissement.

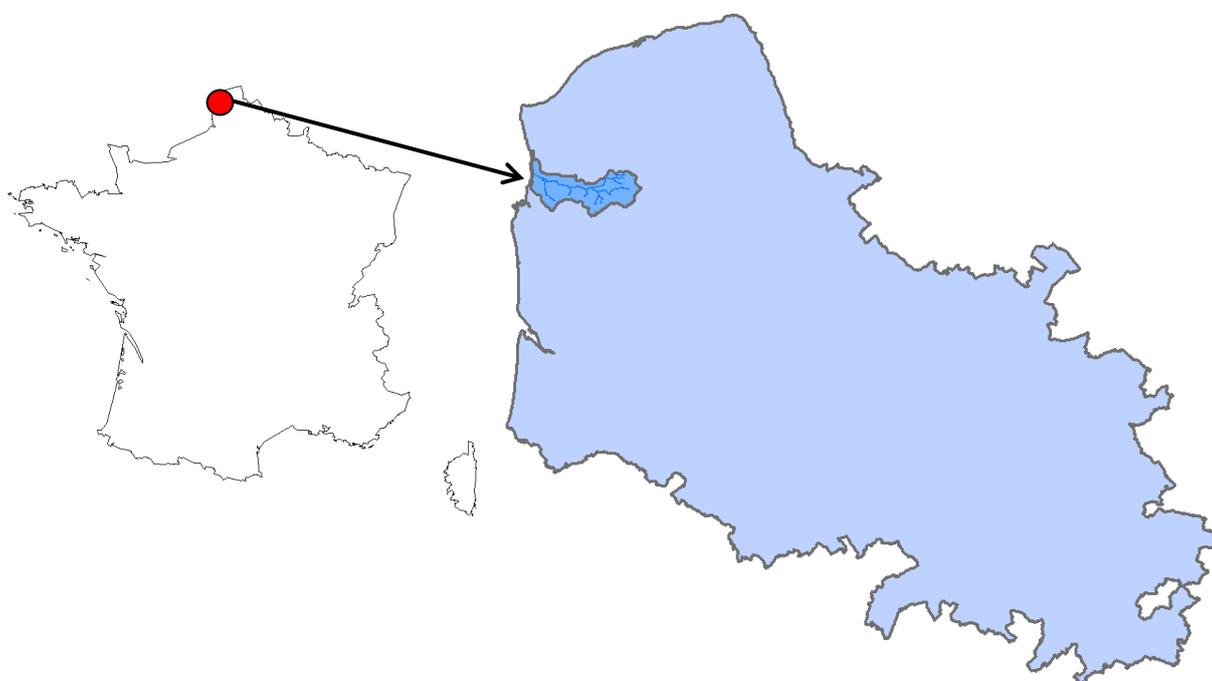


Figure 1 : Localisation du site d'étude

Le calcul du NTT (Niveau Typologique Théorique ; Verneaux, 1977) classe la moitié aval du Wimereux en zone à ombre, et la partie amont en zone à truites (Atlas cartographique du PDPG 2.0 – Carte n°2).

Le Wimereux 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*), la truite de mer (*Salmo trutta trutta*), la lamproie fluviatile (*Lampetra fluviatilis*) et potentiellement la lamproie marine (*Petromyzon marinus*). Le saumon Atlantique (*Salmo salar*) quant à lui n'a jamais été observé, et est historiquement absent du contexte.

Ces espèces restent dépendantes des possibilités de migration entre la Manche et l’amont du bassin du Wimereux, 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.

L’aménagement du moulin de Grisendal (ROE16019/16020) en 2018 a permis de doubler le linéaire accessible pour les lamproies et salmonidés. Le point de blocage actuel, situé au seuil du Goulet (ROE16014) à 10 km de l’embouchure, empêche cependant toujours l’accès aux affluents en amont. Sur le ruisseau du Denêcre, affluent rive gauche qui conflue avec le Wimereux à 3,6 km du trait de côte, le front de migration est le seuil de Biauville aval (ROE16026) situé à 1 km de la confluence.

II.2. Les objectifs

L’inventaire des populations piscicoles du contexte Wimereux 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 (OFB, 2019).

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 Anguilette 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



Figure 3 : Photographie d'une anguille européenne

poursuit jusqu'au début du printemps.

► 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 60 cm à 1,2 m.

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 potamotoque 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 aux 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 du Wimereux, 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 du Wimereux, 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 Astacidae. 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 l'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 du Wimereux, 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 Suscillon, 1962). Toutefois, sa présence a récemment été signalée sur certains cours d'eau du département (communications personnelles).

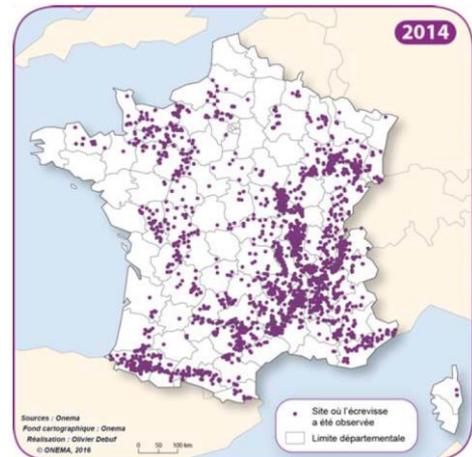


Figure 6 : Répartition de l'écrevisse à pattes blanches en France en 2014. Source : ONEMA

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 le Wimereux 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 réplique.

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 9 stations ont été réalisés sur trois journées à l'aide de deux opérateurs du 29 juin au 1^{er} juillet 2021, 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 du Wimereux, ainsi que sur ses affluents : le Denâcre et le ruisseau de Grigny (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 deux stations situées sur les affluents 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	Coordonnées (Lambert II)		Espèce / Groupe taxo. recherché
				x	y	
Wi-1	Wimereux	0,5	Wimereux	548915	2642017	Poisson
Wi-2	Wimereux	3,6	Wimille	550657	2641190	Poisson
Wi-3	Wimereux	8	Pittefaux	553804	2640354	Poisson
Wi-4	Wimereux	12,3	Conteville-les-Boulogne	557253	2639745	Poisson
Den	Denâcre	4,4	Wimille	550340	2640569	Poisson / <i>A. pallipes</i>
Gri	Grigny	13,8	Belle-et-Houllefort	588536	2640132	Poisson / <i>A. pallipes</i>

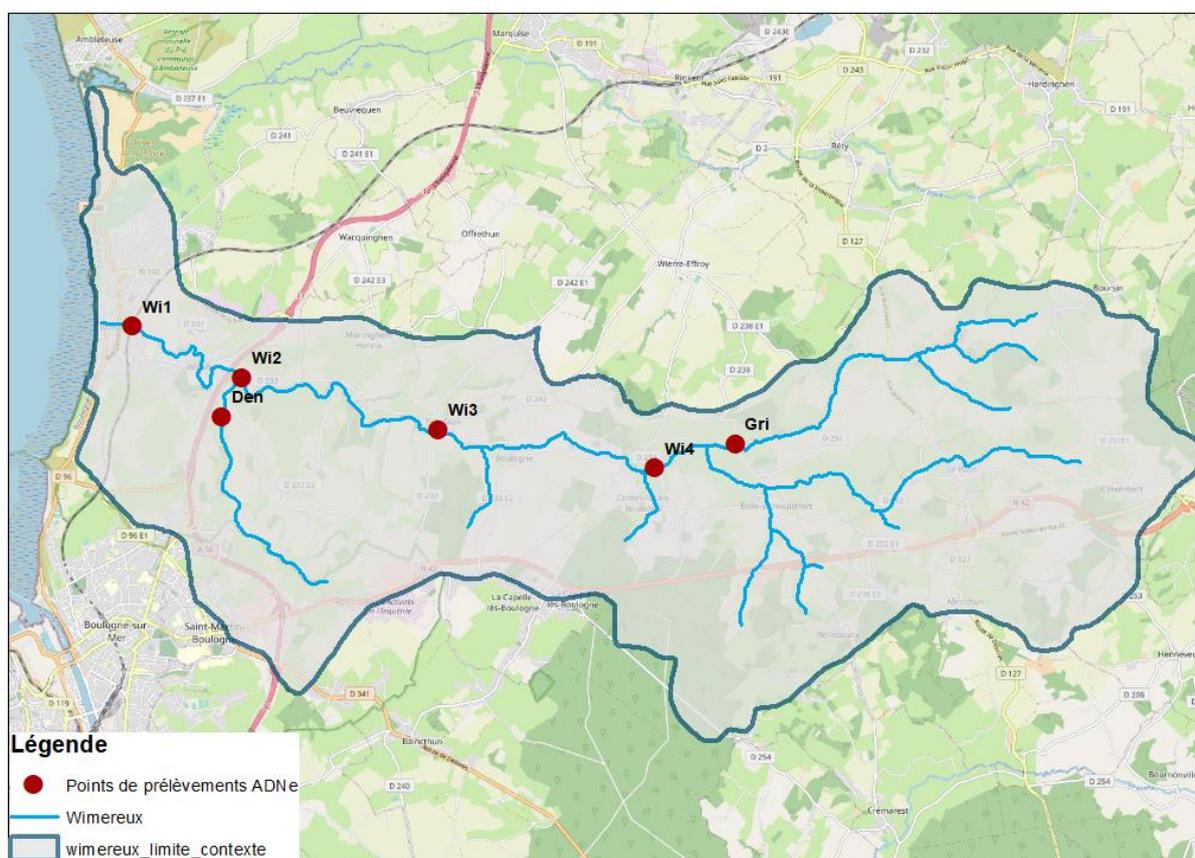


Figure 8 : Localisation des points de prélèvements



Wimereux - 1



Wimereux - 2



Wimereux - 3



Wimereux - 4



Denâtre



Grigny

Figure 9 : Planche photographique des 9 stations de prélèvements sur le Wimereux 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 le Wimereux est alors, sans grand doute, le flet.

Tableau 3 : Limites d'identification de certains taxons

Limites d'identification des taxons		
<i>Cottus sp.</i>	<i>Cottus aturi, Cottus duranii, Cottus gobio, Cottus hispaniolensis, Cottus perifretum</i> ou <i>Cottus petiti</i>	Chabot
<i>Lampetra sp.</i>	<i>Lampetra fluviatilis</i> ou <i>Lampetra planeri</i>	Lamproie fluviatile ou lamproie de Planer
<i>Pleuronectidae</i> Complexe 1	<i>Platichthys flesus</i> ou <i>Pleuronectes platessa</i>	Flet ou Plie commune
<i>Salmo trutta</i>	<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 prélèvement 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.

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

IV.1.1. Vue d'ensemble sur le bassin versant du Wimereux

Les analyses ont permis de détecter l'ADN de 22 espèces de poissons sur l'ensemble des stations échantillonnées sur le Wimereux et ses affluents, dont 5 espèces marines probablement liées à la consommation et issues de rejets domestiques. 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 du Wimereux sont le chabot (*Cottus sp.*), le vairon (*Phoxinus phoxinus*) et l'anguille (*Anguilla anguilla*), accompagnées de la truite (*Salmo trutta*). Les espèces qui apparaissent les moins représentées, hormis les espèces marines dont l'ADN détecté est probablement issu de rejets domestiques, sont le carassin (*Carassius sp.*), la perche commune (*Perca fluviatilis*), et les lamproies (*Lampetra sp.*).

Tableau 4 : Liste des espèces piscicoles détectées par l'analyse de l'ADNe sur le bassin du Wimereux

(*Quantité d'ADN insuffisante pour certifier la détection du taxon dans l'échantillon - **Espèces marines ou amphihalines, consommées, probablement issues de rejets)

Nom vernaculaire	Code taxon	Nom scientifique
Brème commune	BRE	<i>Abramis brama</i>
Anguille	ANG	<i>Anguilla anguilla</i>
Carassin	CAS	<i>Carassius sp.</i>
Mulet lippu	MGL**	<i>Chelon labrosus</i>
Mulet porc	MUP	<i>Chelon ramada</i>
Chabot	CHA	<i>Cottus sp.</i>
Carpe commune	CCO	<i>Cyprinus carpio</i>
Bar commun	LOU	<i>Dicentrarchuslabrax</i>
Epinoche	EPI	<i>Gasterosteus aculeatus</i>
Goujon	GOU	<i>Gobio sp.</i>
Lamproie	LPR/LPP	<i>Lampetra sp.</i>
Truite arc-en-ciel	TAC	<i>Oncorhynchus mykiss</i>
Perche fluviatile	PER	<i>Perca fluviatilis</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	PIL**	<i>Sardinia pilchardus</i>
Rotengle	ROT*	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>
Maquereau	MAC*/**	<i>Scomber scombrus</i>

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

(*Occurrence pour les 14 prélèvements réalisés - **Total des séquences sur l'ensemble des 14 prélèvements - ***Hors espèces marines probablement issues de rejet domestique)

Diversité totale détectée :	22 (17)		
Richesse moyenne	11 (10)		
Richesse minimum par station	5 (Grigny)		
Richesse maximum par station	19 (13) (Wi-1)		
Taxons les plus représentées (occurrence*/séquences totales**)	CHA (12/799493)	VAI (12/358549)	ANG (12/192065)
Taxons les moins représentées*** (occurrence*/séquences totales**)	CAS (2/474)	PER (2/2910)	LPP/LPF (2/11328)
Espèces migratrices	ANG, LPR, TRM, FLE		
Espèces patrimoniales détectées	ANG, CHA, LPR/LPP, TRF/TRM		

N.B : Le second nombre indiqué correspond à la diversité sans prise en compte des espèces marines dont l'ADN détecté est probablement issu de rejet domestique.

Sur l'ensemble des prélèvements réalisés, 5 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 le contexte Wimereux, 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>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	

* 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 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, 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 Wimereux-1

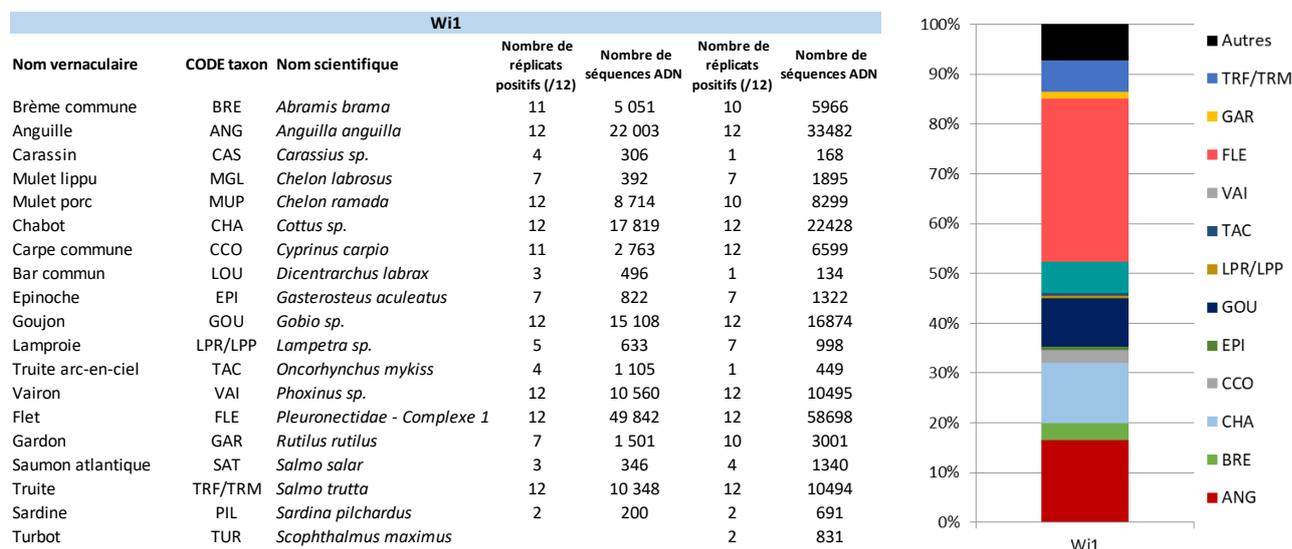
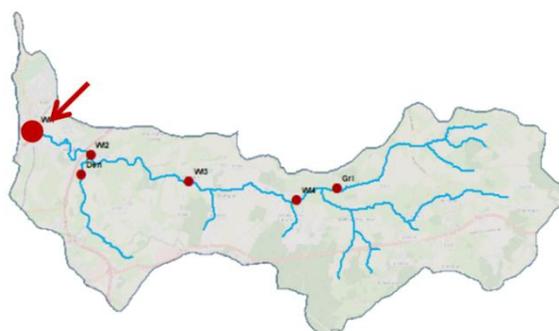


Figure 10 : Résultats de la station Wimereux-1

Sur la station Wimereux-1 située sur l'axe Wimereux à 500m du trait de côte, au niveau de la commune de Wimereux, 19 espèces de poissons ont été détectées, ce qui représente la diversité la plus importante retrouvée sur l'ensemble des stations. Cependant, parmi celles-ci, 6 sont des espèces marines, qui a priori ne sont pas susceptibles d'être présente sur cette station. Il s'agit du mulet lippu (*Chelon labrosus*), du mulet porc (*Chelon ramada*), du bar commun (*Dicentrarchus labrax*), du saumon Atlantique (*Salmo salar*), de la sardine (*Sardina pilchardus*) et du turbot (*Scophthalmus maximus*).

Hormis ces espèces marines, deux taxons n'ont été détectés que sur cette station: la brème commune (*Abramis brama*) et le carassin (*Carassius sp.*), que l'on retrouve typiquement dans les parties aval des cours d'eau.

En termes de nombre de séquences d'ADN, le flet (*Pleuronectidae*) est majoritaire, suivi de l'anguille (*Anguilla anguilla*), et du chabot (*Cottus sp.*).

Station Wimereux-2

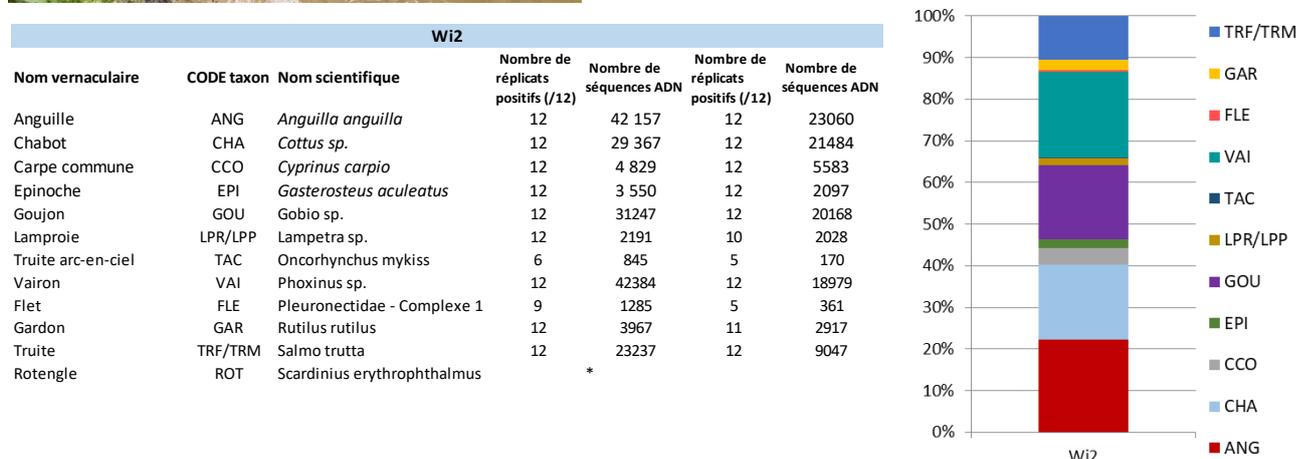
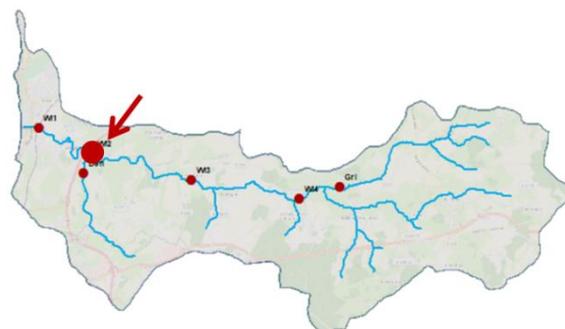
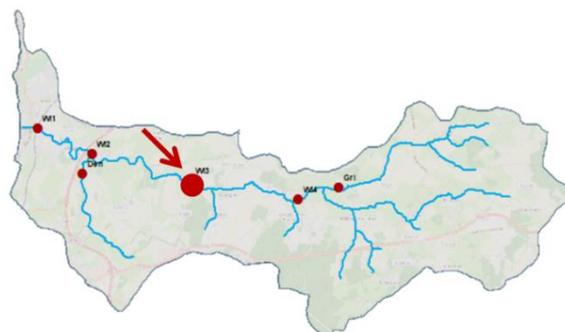


Figure 11 : Résultats de la station Wimereux-2

La station Wimereux-2 située sur le Wimereux au niveau de la commune de Wimille à 3,6 km de l'estuaire, présente une diversité de 12 espèces. Tout comme sur la station Wimereux-1, on y retrouve le flet (*Pleuronectidae*), espèce inféodée au milieu marin mais que l'on peut retrouver assez profondément dans les terres. Son ADN n'a pas été détecté sur les stations plus en amont.

Les espèces majoritairement présentes selon les séquences ADN dénombrées sont l'anguille (*Anguilla anguilla*), le vairon (*Phoxinus phoxinus*), le goujon (*Gobio sp.*), le chabot (*Cottus sp.*) et la truite (*Salmo trutta*), cortège d'espèce inféodé à la zone à truite.

Station Wimereux-3



Wi3						
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	5 760	11	6592
Chabot	CHA	<i>Cottus sp.</i>	12	48 649	12	68692
Carpe commune	CCO	<i>Cyprinus carpio</i>	12	18 249	12	13901
Epinoche	EPI	<i>Gasterosteus aculeatus</i>	12	2 997	11	1792
Goujon	GOU	<i>Gobio sp.</i>	12	23 797	12	29746
Lamproie	LPR/LPP	<i>Lampetra sp.</i>	12	3 415	6	1168
Truite arc-en-ciel	TAC	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	12	34 844	11	9950
Vairon	VAI	<i>Phoxinus sp.</i>	12	17 988	12	17650
Gardon	GAR	<i>Rutilus rutilus</i>	10	1 575	6	1809
Truite	TRF/TRM	<i>Salmo trutta</i>	12	10 907	12	18299

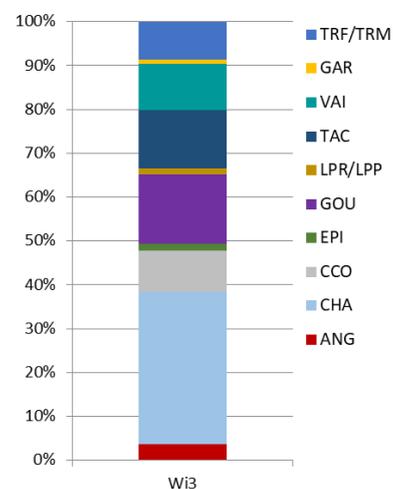


Figure 12 : Résultats de la station Wimereux-3

La station Wimereux-3 située sur le Wimereux à 8 km du trait de côte au niveau de la commune de Pittefaux présente une diversité de 10 espèces.

Le cortège d'espèce est similaire à celui de la station Wimereux-2 située 4,4 km en aval, à la différence de l'absence du flet (*Pleuronectidae*).

En terme de nombre de séquence les espèces majoritaire sont relativement semblables à la station Wimereux-2 : le chabot en majeure partie, accompagné du goujon (*Gobio sp.*), de la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*), du vairon (*Phoxinus phoxinus*) et de la truite (*Salmo trutta*).

Station Wimereux-4

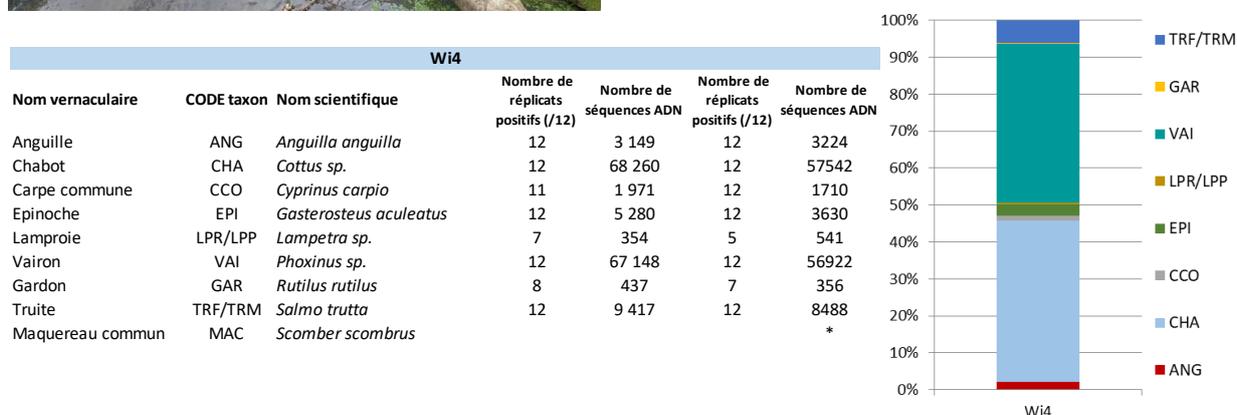
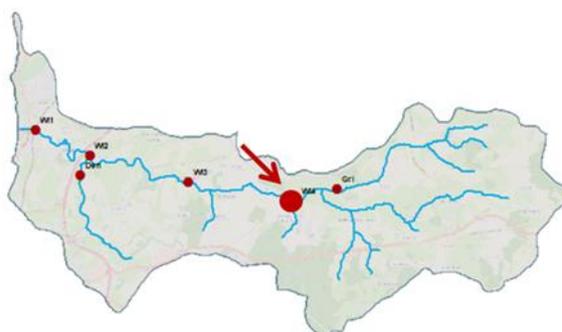


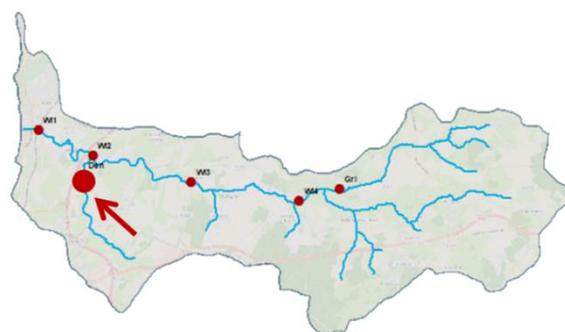
Figure 13 : Résultats de la station Wimereux-4

Sur la station Wimereux-4 située sur le Wimereux au niveau de Conteville-lès-Boulogne, 9 espèces ont été détectées. En terme d'assemblage faunistique cette station apparaît également assez proche des stations Wimereux-2 et Wimereux-3 situées en aval, malgré l'absence du goujon, bien présent sur ces deux dernières stations.

Il est à noter la détection en très faible quantité d'ADN de maquereau commun (*Scomber scombrus*). La station étant située à plus de 12 km de la côte sa réelle présence n'est pas envisageable. De ce fait, bien que le prélèvement ait été effectué dans une zone herbagée où il y a très peu d'habitations en amont, l'ADN doit provenir d'un rejet d'assainissement.

L'analyse semi-quantitative du nombre de séquence, semble mettre en évidence une population nettement dominée par les goujon et les vairon, avec notamment une quantité plus faible de truite.

Station Denâtre



Den						
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	23 631	12	11594
Chabot	CHA	<i>Cottus sp.</i>	12	140 140	12	112882
Carpe commune	CCO	<i>Cyprinus carpio</i>	7	3 508	6	964
Épinoche	EPI	<i>Gasterosteus aculeatus</i>	7	892	5	2239
Perche fluviatile	PER	<i>Perca fluviatilis</i>	1	2 410	2	500
Vairon	VAI	<i>Phoxinus sp.</i>	6	1 467	3	513
Gardon	GAR	<i>Rutilus rutilus</i>	12	24 386	12	21735
Truite	TRF/TRM	<i>Salmo trutta</i>	11	13 878	12	11103

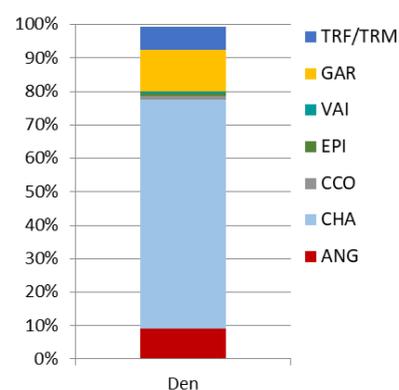
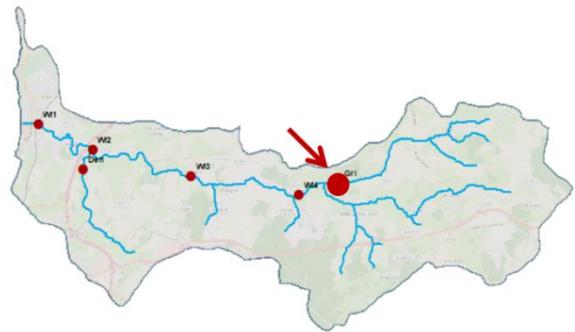


Figure 14 : Résultats de la station Denâtre

La station du Denâtre est située sur le ruisseau éponyme, au niveau de la commune de Wimille à 4,4 km de la mer. Elle présente une diversité de 8 espèces avec un assemblage assez similaire aux stations de l'axe Wimereux. La principale différence se situe au niveau de l'absence de détection de lamproie (*Lampetra sp.*), et de la détection de séquence d'ADN de perche fluviatile (*Perca fluviatilis*).

Concernant l'analyse du nombre de séquence, on note une présence très majoritaire de chabot, suivi dans une moindre mesure par l'anguille et la truite, assemblage assez caractéristique des têtes de bassin.

Station Grigny



Gri						
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	Anguilla anguilla	12	9104	12	8309
Chabot	CHA	Cottus sp.	12	130527	12	81703
Épinoche	EPI	Gasterosteus aculeatus	12	9371	12	9397
Vairon	VAI	Phoxinus sp.	12	60956	12	53487
Truite	TRF/TRM	Salmo trutta	12	25338	12	9848

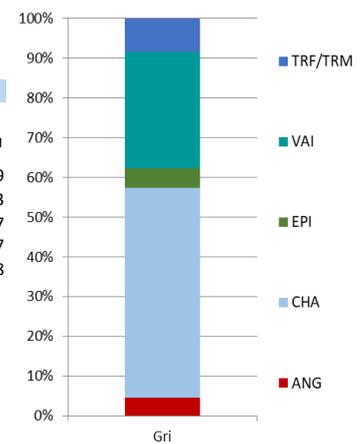


Figure 15 : Résultats de la station Grigny

Les prélèvements réalisés sur le ruisseau de Grigny, qui conflue avec le Wimereux en amont de la station Wimereux-4, mettent en évidence la présence uniquement de 5 espèces de poissons.

Il s'agit, dans l'ordre de représentativité du nombre de séquence, du chabot, du vairon, de la truite, de l'anguille et de l'épinoche.

IV.1.3. Evolution longitudinale

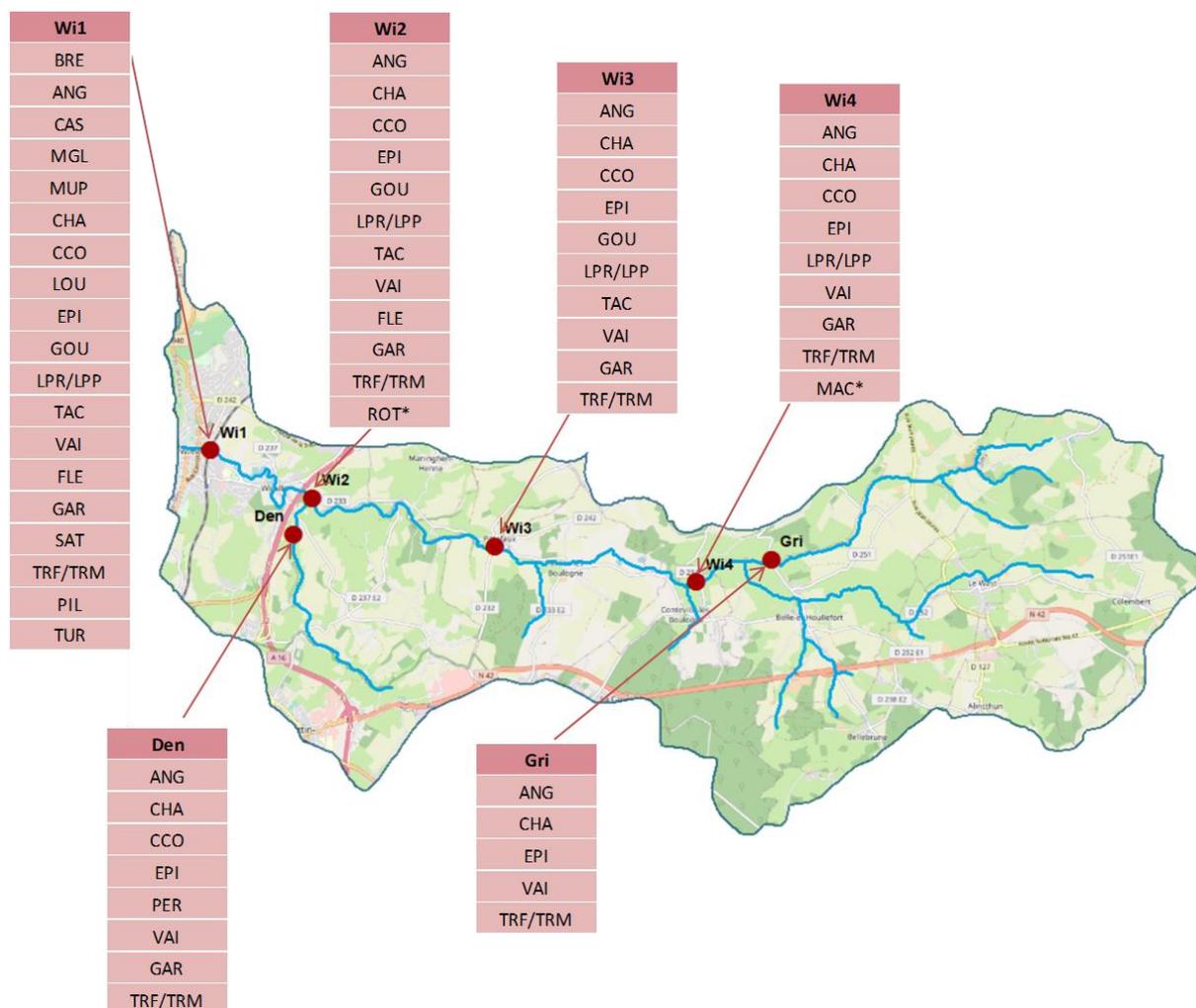


Figure 16 : Représentation cartographique schématique des listes de taxons obtenues à l'aide de l'analyse de l'ADNe par station.

La cartographie de la Figure 16 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 du Wimereux. L'occurrence de chaque espèce sur chacune des stations échantillonnées est visible sur la Figure 17.

Tableau 7 : Récapitulatif des taxons détectés par station

Nom vernaculaire	Code taxon	Nom scientifique	Wi1	Wi2	Wi3	Wi4	Den	Gri
Brème commune	BRE	<i>Abramis brama</i>	x					
Anguille	ANG	<i>Anguilla anguilla</i>	x	x	x	x	x	x
Carassin	CAS	<i>Carassius sp.</i>	x					
Mulet lippu	MGL	<i>Chelon labrosus</i>	x					
Mulet porc	MUP	<i>Chelon ramada</i>	x					
Chabot	CHA	<i>Cottus sp.</i>	x	x	x	x	x	x
Carpe commune	CCO	<i>Cyprinus carpio</i>	x	x	x	x	x	
Bar commun	LOU	<i>Dicentrarchus labrax</i>	x					
Epinoche	EPI	<i>Gasterosteus aculeatus</i>	x	x	x	x	x	x
Goujon	GOU	<i>Gobio sp.</i>	x	x	x			
Lamproie	LPR/LPP	<i>Lampetra sp.</i>	x	x	x	x		
Truite arc-en-ciel	TAC	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	x	x	x			
Perche fluviatile	PER	<i>Perca fluviatilis</i>					x	
Vairon	VAI	<i>Phoxinus sp.</i>	x	x	x	x	x	x
Flet	FLE	<i>Pleuronectidae - Complexe 1</i>	x	x				
Gardon	GAR	<i>Rutilus rutilus</i>	x	x	x	x	x	
Saumon atlantique	SAT	<i>Salmo salar</i>	x					
Truite	TRF/TRM	<i>Salmo trutta</i>	x	x	x	x	x	x
Sardine	PIL	<i>Sardina pilchardus</i>	x					
Rotengle	ROT	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>		*				
Maquereau commu	MAC	<i>Scomber scombrus</i>				*		
Turbot	TUR	<i>Scophthalmus maximus</i>	x					
Diversité			19	12	10	9	8	5
Diversité hors sp. marine potentiellement issues de rejet			15	12	10	8	8	5

N.B : En rouge, les espèces marines potentiellement issues de rejet

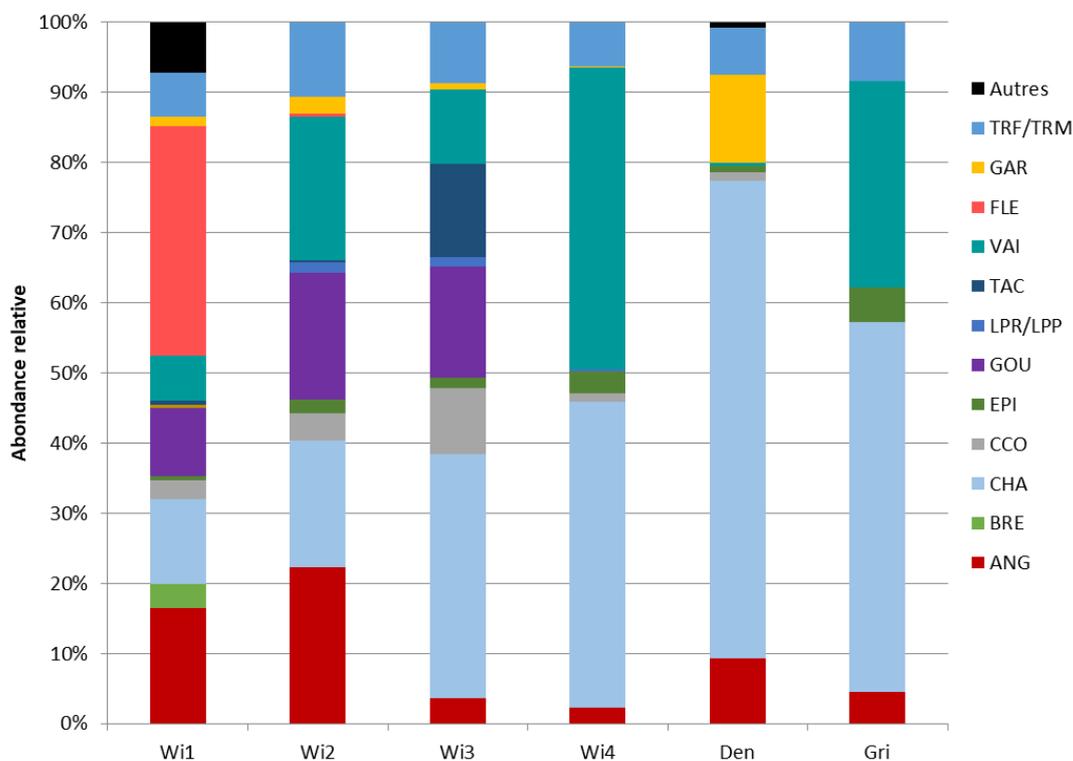


Figure 17 : Abondance relative du nombre de séquence ADN de chaque espèce détectée, pour l'ensemble des stations

L'analyse longitudinale peut présenter un intérêt particulier pour les espèces migratrices. La Figure 18 représente l'évolution sur l'axe Wimereux du nombre de séquences d'ADN retrouvé par station, ainsi que le nombre de répliquas 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).

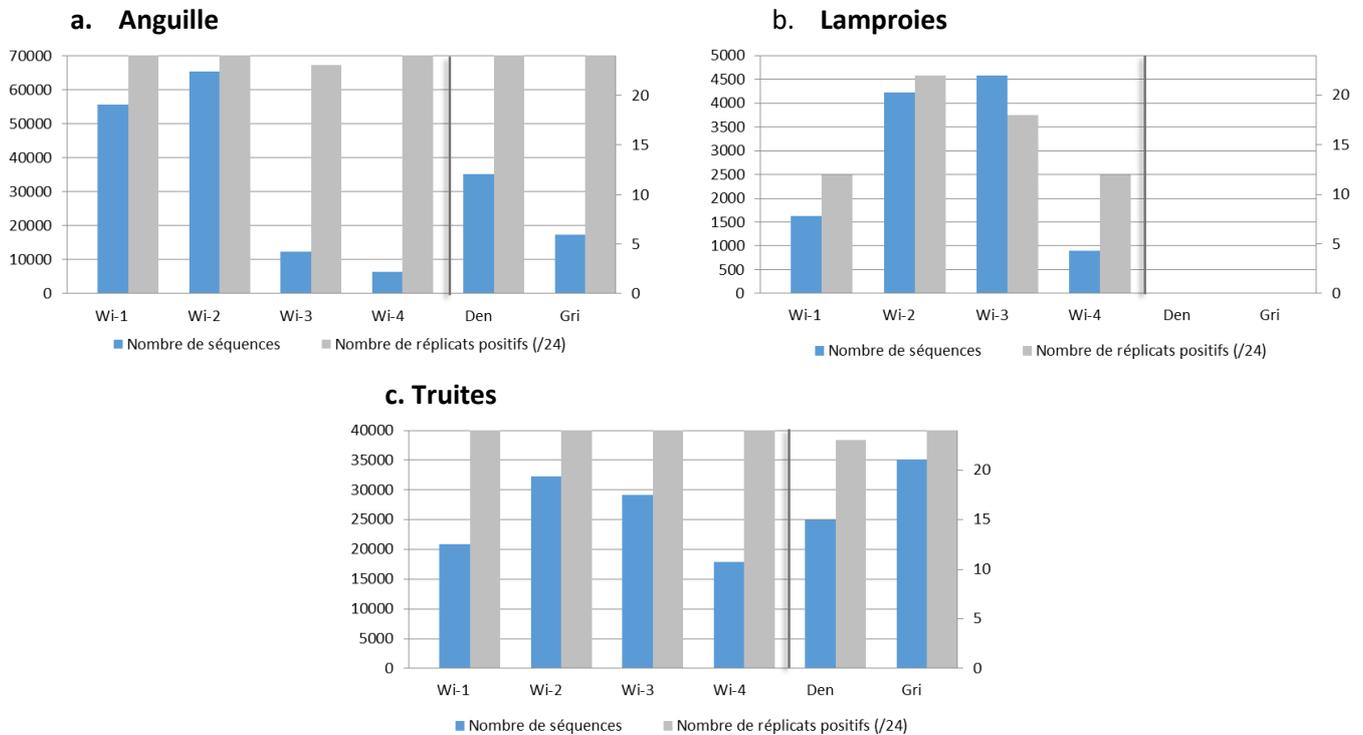


Figure 18 : Nombre de séquence d'ADN a. : d'Anguille (*Anguilla anguilla*) ; b. : de Lamproie de rivière et de Planer (*Lampetra sp.*) ; c. : de Truite fario ou Truite de mer (*Salmo trutta*), et le nombre de répliquas positifs correspondant pour l'ensemble des stations de l'axe Wimereux et affluents

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

La technique d'analyse de l'ADN dite mono-spécifique a été déployée sur deux stations du bassin du Wimereux : sur le ruisseau de Grigny et du Denâcre. L'ADN d'écrevisse à pattes blanches (*Austropotamobius pallipes*) n'a pas été détecté sur ces deux prélèvements.

Site	Détection de l'ADN de l'Ecrevisses à pattes blanches	Nombre de répliquats positifs
Denâtre	NON	0/12
	NON	0/12
Grigny	NON	0/12
	NON	0/12



Figure 19 : 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

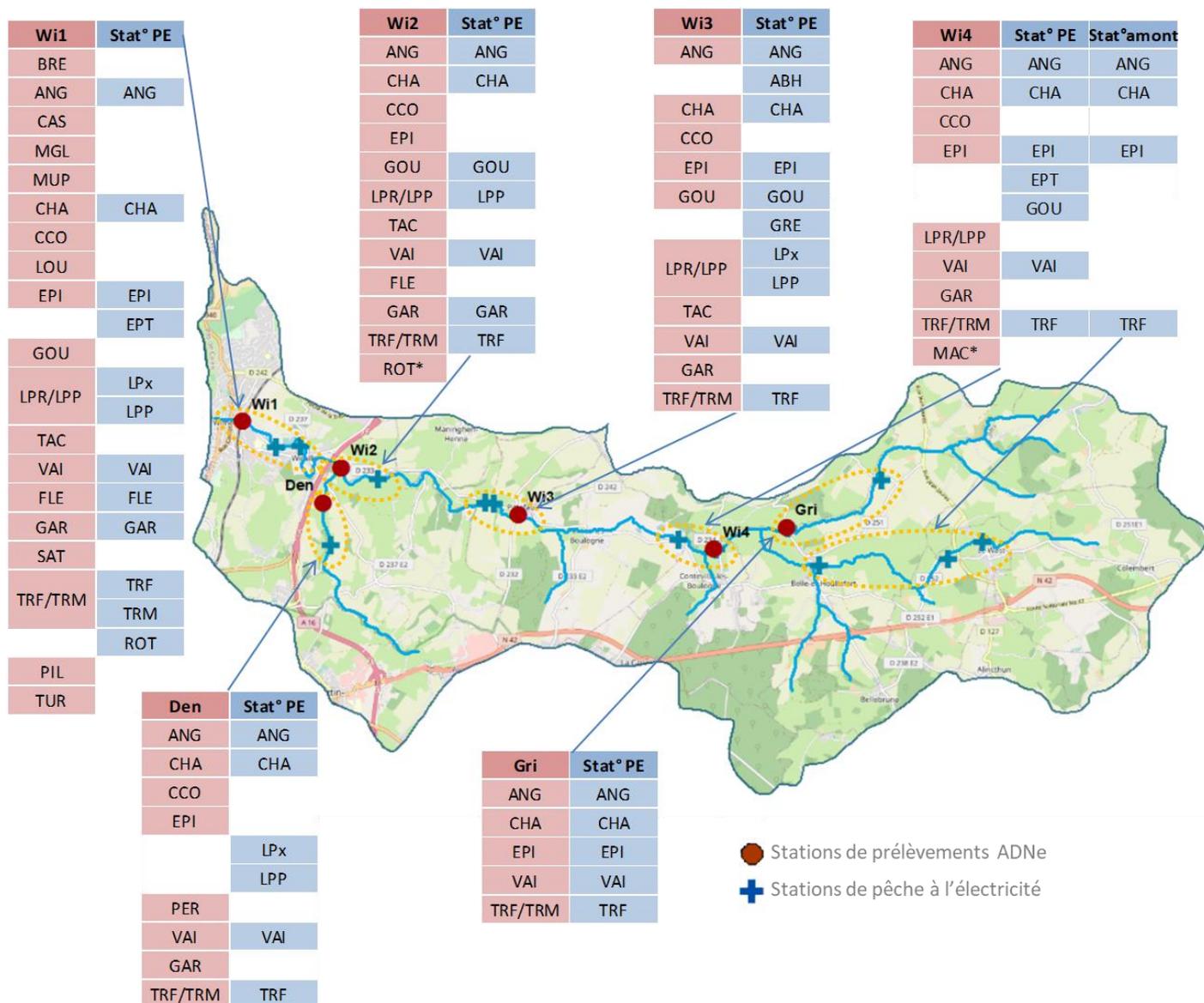


Figure 20 : Représentation cartographique schématique des listes de taxons obtenues à l'aide de l'ADNe (en rouge) par station, et par pêche électrique (en bleu) sur les stations à proximité

Les résultats des différentes opérations de pêche électrique réalisées sur le bassin du Wimereux ont été recueillis (détail des opérations et des résultats en annexe 3 et 4). La Figure 20 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 (29 opérations) et que la plupart ne sont pas des pêches d'inventaire complet, mais des pêches stratifiées ou ciblant une espèce particulière (20 opérations sur 29 correspondent à des pêches ciblées sur l'anguille).

Il en ressort que l'ADN permet globalement de mettre en évidence une diversité plus importante que les opérations de pêches électriques (25% de diversité en plus sur les stations comparables).

Certains taxons ont été détectés via l'ADNe et n'avaient jamais été contactés en pêche à l'électricité sur les stations à proximité (brème, carpe, goujon, gardon, truite arc-en-ciel). 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. Pour la truite arc-en-ciel cela peut être dû aux périodes d'échantillonnage à l'électricité, potentiellement éloigné des jours de déversement.

Egalement, sur la station la plus aval, Wimereux-1, située à 500m du trait de côte dans une zone soumise à l'influence des marées, l'ADN de plusieurs espèces marines a été retrouvé, et ce dans une quantité non négligeable (le nombre de séquence représentant 7% du nombre totale de séquences). On y retrouve le bar et mullet porc qui peuvent évoluer en eau douce et sont donc susceptibles de se retrouver en amont du point de prélèvement, mais également des espèces qui ne pénètrent généralement pas en eau douce, comme le mullet lippu, la sardine et le turbot. Le saumon atlantique quant à lui remonte en eau douce pour se reproduire, mais sa présence n'est pas connue sur le Wimereux.

Il existe deux hypothèses pouvant expliquer la détection de ces taxons sur cette station. La première serait liée au fait que les prélèvements aient été réalisés en début de marée montante. Cela aurait pu entraîner la filtration d'eau de mer et donc la détection de séquences d'ADN d'espèces évoluant sur la frange littorale à proximité de l'estuaire. La seconde hypothèse serait que ces séquences d'ADN proviennent de la station d'épuration dont le rejet est situé quelques dizaines de mètres en amont du point de prélèvement. En effet, il est fort probable que ces espèces soient consommées et/ou préparées localement (présence de poissonneries, activité de pêche et de tourisme).

Par ailleurs, certains taxons ont été contactés lors d'inventaires à l'électricité et n'ont pas été retrouvés lors des prélèvements ADN. C'est le cas notamment pour l'épinochette (EPT ; *Pungitius pungitius*) qui a été signalé lors de différentes opérations de pêche à proximité des stations Wimereux-1 et Wimereux-4, alors qu'elle n'a pas été détecté via les prélèvements d'ADNe sur l'ensemble de bassin. De la même manière un able de Heckel aurait été échantillonné en 2021 et une grémille en 1988, à proximité de la station Wimereux-3. Ces deux taxons n'ont pas été contacté sur le bassin lors d'autres opérations de pêche à l'électricité, ni via l'ADNe.

Sur le Denâcre, les analyses de l'ADNe n'ont pas permis de mettre en évidence la présence de lamproies (de Planer et indéterminée), alors que des individus de lamproies y ont été contactés en pêche à l'électricité, et notamment en septembre 2021, soit moins de trois mois après les prélèvements d'ADNe. Il est alors probable que le flux d'ADN de ces individus n'ai pas été capté lors du prélèvement, d'une part car la population doit être minime, et d'autre part car, hors période de reproduction des lamproies fluviatiles, seuls les ammocètes sont présentes dans le cours d'eau. Celles-ci vivant enfouis dans le substrat, elles limitent ainsi le relargage de leur ADN.

► 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 Wimereux sont suivies tous les trois ans. Pour ce faire, des pêches à

l'électricité de type EPA (Echantillonnage Ponctuel d'Abondance) sont effectuées sur trois stations réparties sur le tronçon Wimereux ainsi que sur deux stations situées sur des affluents (le Denâcre et le ruisseau de Grigny).

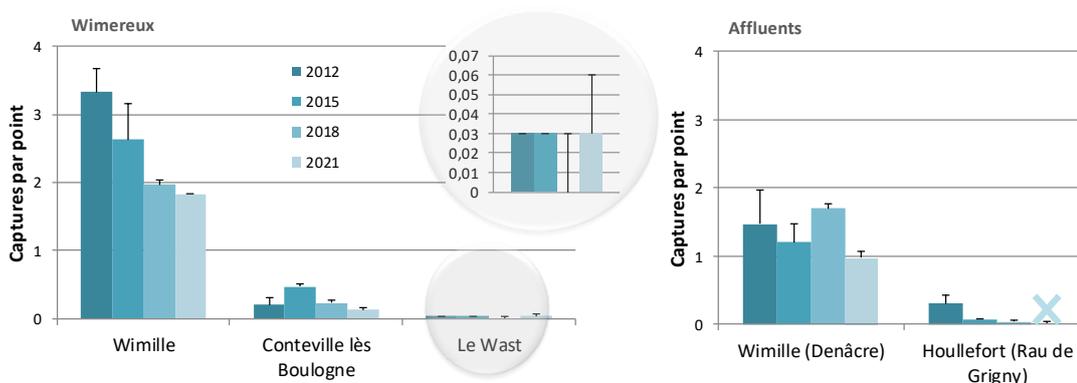


Figure 21 : CPUE (Nombre d'Anguille par point) pour les 3 stations de l'axe Wimereux et les 2 stations sur les affluents échantillonnées dans le cadre du Réseau de Suivi Anguille lors des différentes campagnes

Sur les quatre campagnes réalisées depuis 2012, les résultats suivent les mêmes tendances sur l'axe Wimereux, avec une abondance d'anguille importante mais en baisse au fil des années, sur la partie basse à Wimille, une population beaucoup plus faible sur la partie médiane à Conteville-lès-Boulogne, et quasiment relictuelle sur l'amont du bassin à Le Wast. En analysant le nombre de séquences obtenues sur les différentes stations échantillonnées, on note la même tendance de diminution sur un gradient aval-amont.

En ce qui concerne les affluents, les résultats du monitoring anguille mettent en évidence une population plus importante sur le Denâcre que sur le ruisseau de Grigny. On note également une diminution de l'abondance au fil des ans, avec même une absence totale d'anguille échantillonnée sur le ruisseau de Grigny en 2021. Les tendances sont similaires avec l'analyse des séquences d'ADNe, à la différence que l'ADN d'anguille a été détecté sur le ruisseau de Grigny.

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

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

On voit sur la Figure 22 que les nids de pont de Lamproie fluviatile, comptabilisés de 2013 à 2015, sont observés jusqu'à l'ouvrage du Moulin de Grisendal (ROE16019), qui représentait l'ancien front de colonisation avant son aménagement en 2018. Les nids de grands salmonidés, soit de truites de mer étant donné que le saumon Atlantique n'a jamais été mis en évidence sur le bassin, sont visibles jusqu'au seuil du Goulet (ROE16014), qui constitue le front de colonisation actuel.

Les séquences d'ADN de truite retrouvées sur les stations en aval du front de colonisation du Wimereux, soit les stations Wimereux-1, 2 et 3, peuvent alors correspondre aussi bien à de la truite de mer, qu'à de la truite fario l'ADN de ces deux écotypes étant semblable. La truite fario est présente sur 74% du contexte Wimereux, bien que la productivité y soit faible (2,1 truite fario/100m²

- Atlas cartographique du PDPG 2.0 – Carte n°16 et 17). C'est le cas également pour la station sur le Denâcre, située en aval du seuil de Biauville aval (ROE16026) constituant le front de colonisation sur cet affluent. En revanche, sur la station Wimereux-4 et sur le ruisseau de Grigny, situés en amont du seuil de Goulet, il est certain que les séquences obtenues appartiennent uniquement à de la truite fario, ce qui peut potentiellement expliquer sa plus faible occurrence.

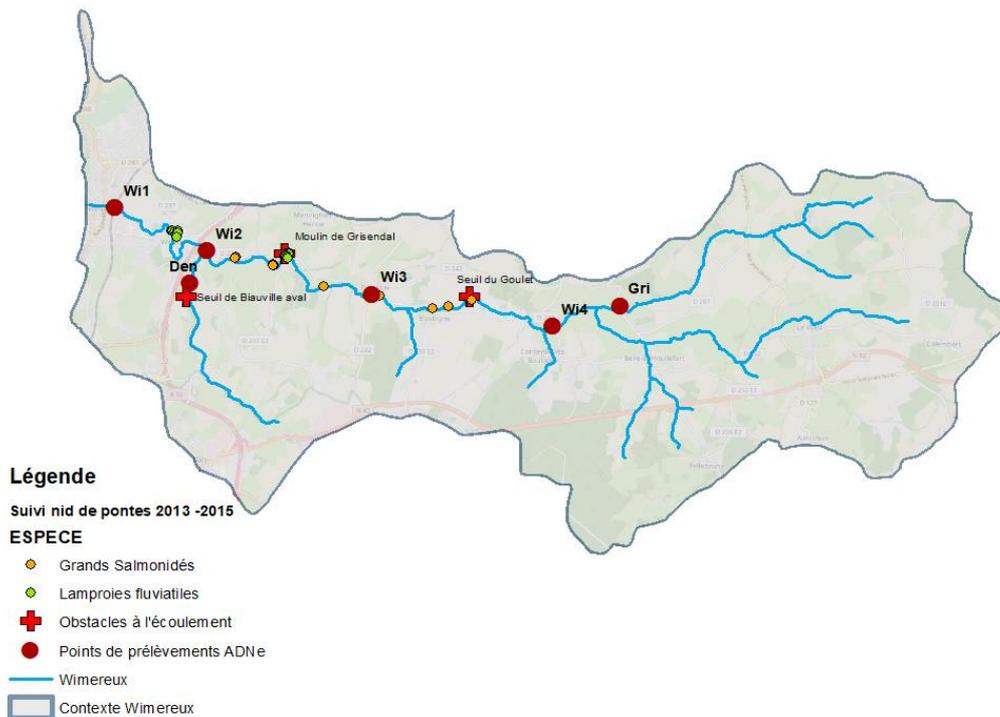


Figure 22 : Localisation des frayères à lamproie fluviatile et à truite de mer recensées de 2013 à 2015 sur le Wimereux

Des séquences d'ADN du genre *Lampetra*, regroupant la lamproie fluviatile et la lamproie de Planer, ont été détectées sur la totalité des stations de l'axe Wimereux, mais pas sur les affluents. Ainsi, de la même manière que pour les truites, les séquences d'ADN de lamproie retrouvées en amont du seuil du Goulet ne peuvent appartenir qu'à de la lamproie de Planer, qui contrairement à la lamproie fluviatile peut effectuer l'ensemble de son cycle en eau douce.

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

Les analyses monospécifiques menées sur le contexte Wimereux (sur le ruisseau du Denâcre et de Grigny) 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 Wimereux.

Concernant le compartiment piscicole, 22 taxons différents ont été contactés, dont 5 espèces marines, dont la présence de séquence d'ADN dans le milieu est probablement en lien avec soit les rejets d'assainissement, soit avec la présence d'eau de mer lors du prélèvement (marée montante).

La diversité réelle du contexte Wimereux serait alors de 15 taxons, dont 5 espèces patrimoniales : l'anguille, le chabot, la lamproie de Planer et la lamproie fluviatile (détection du genre *Lampetra* : forte probabilité de la présence de ces deux espèces) et la truite (écotype fario et truite de mer).

Il ressort des listes faunistiques obtenues une diversité nettement plus importante à celle historiquement établie lors des différentes opérations de pêche à l'électricité.

Concernant les poissons migrateurs, il est à noter que l'ADN de saumon atlantique, de lamproie marine et d'aloses non pas été détectés sur le bassin du Wimereux. L'anguille a été mise en évidence sur l'ensemble des stations échantillonnées et le flet est présent, au moins jusqu'à la station située à 3,6 km du trait de côte. Il n'a pas été détecté sur la station à 4 km en amont, ni sur les affluents. Concernant la truite de mer, il n'est pas possible de conclure sur sa colonisation via les analyses de l'ADNe, étant donné qu'elle est génétiquement similaire à la truite fario, son écotype holobiotique.

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 sur le bassin du Wimereux. La FDAAPPMA62 va poursuivre ses investigations à l'aide de cette méthode sur les différents bassins n'ayant pas encore fait l'objet d'une telle étude.

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

OFB, 2019. Inventaire des écrevisses par la méthode d'ADN environnemental et la pose d'habitat artificiel. 22p.

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

Pawlowski J., Apothéoz-Perret-Gentil L., Mächler E., Altermatt F., 2020: Utilisations de l'ADN environnemental pour la surveillance et l'évaluation biologiques des écosystèmes aquatiques. 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., Basílico 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

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.

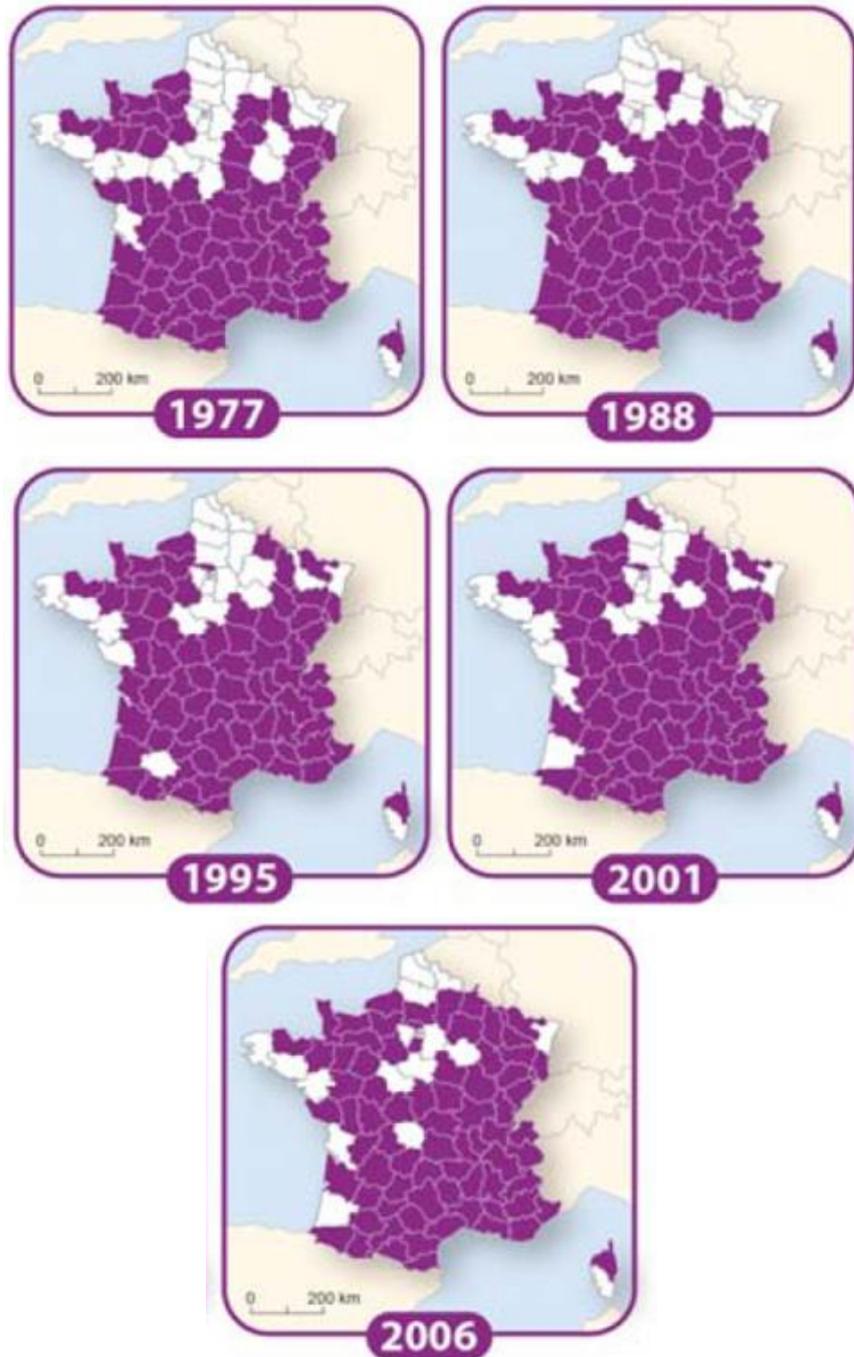
UICN France & MNHN, 2014. La Liste rouge des espèces menacées en France - Chapitre Crustacés d'eau douce de France métropolitaine. Paris, France. Photo

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

www.hydro.eaufrance.fr

VIII. Annexes

Annexe 1 : Evolution de la répartition de l'écrevisse à pattes blanches en France de 1977 à 2006. Source: ONEMA



Annexe 2 : Tableau récapitulatif des prélèvements – Fichier terrain transmis à Spygen

Code SPYGEN	Code du site	Nom du site	Date d'échantillonnage	Type de milieu (Courant / Stagnant)	Type de kit (Louche / Tuyau)	Réplikat terrain 1 ou 2 (si existant)	Durée filtration (Kit tuyau)	Nom du préleveur	Espèces / groupes taxonomiques recherchés
SPY 210766	Wi5	Wi5	30/06/2021	Courant	Tuyau	1	30'	LM	Poissons + APP
SPY 210767	Wi5	Wi5	30/06/2021	Courant	Tuyau	2	30'	LM	Poissons + APP
SPY 210768	Wi6	Wi6	30/06/2021	Courant	Tuyau	1	30'	BR	Poissons + APP
SPY 210769	Wi6	Wi6	30/06/2021	Courant	Tuyau	2	30'	BR	Poissons + APP
SPY 210770	Wi4	Wi4	28/06/2021	Courant	Tuyau	1	30'	LM	Poissons
SPY 210771	Wi4	Wi4	28/06/2021	Courant	Tuyau	2	30'	LM	Poissons
SPY 210772	Wi3	Wi3	28/06/2021	Courant	Tuyau	1	30'	LM	Poissons
SPY 210773	Wi3	Wi3	28/06/2021	Courant	Tuyau	2	30'	LM	Poissons
SPY 210774	Wi2	Wi2	28/06/2021	Courant	Tuyau	1	30'	BR	Poissons
SPY 210775	Wi2	Wi2	28/06/2021	Courant	Tuyau	2	30'	BR	Poissons
SPY 210776	Wi1	Wi1	28/06/2021	Courant	Tuyau	1	30'	LM	Poissons
SPY 210777	Wi1	Wi1	28/06/2021	Courant	Tuyau	2	30'	LM	Poissons

Annexe 3 : Détail des différentes opérations de pêche électrique réalisées sur le contexte Wimereux entre 1988 et 2021

Cours d'eau	Commune	Date	Coordonnées (Lambert II)		Organisme	Type de peche
Wimereux	Wimille	12/06/2012	549948	2641584	Priofish	Pêche complète 1 passage
		31/07/2012	549508	2641566	FD62	Monitoring anguille*
		08/09/2015	549508	2641566	FD62	Monitoring anguille*
		07/09/2018	549508	2641566	FD62	Monitoring anguille*
		10/09/2021	549508	2641566	FD62	Monitoring anguille*
		09/09/2009	551316	2641001	OFB	Pêche complète - 2 passages
	Manninghen-Henne	12/09/2017	553359	2640559	Hydrosphère	Pêche complète- 2 passages
		07/09/2021	553359	2640559	OFB	Pêche complète- 2 passages
	Pittefaux	28/06/1988	553212	2640572	OFB	Pêche complète - 2 passages
	Conteville-lès-Boulogne	12/06/2012	557285	2639750	Priofish	Pêche complète 1 passage
		31/07/2012	556615	2639911	FD62	Monitoring anguille*
		08/09/2015	556615	2639911	FD62	Monitoring anguille*
		06/09/2018	556615	2639911	FD62	Monitoring anguille*
		08/09/2021	556615	2639911	FD62	Monitoring anguille*
	Belle-et-Houllefort	06/06/2013	558562	2640131	Priofish	Pêche complète 1 passage
	Belle-et-Houllefort	07/06/2013	559114	2639456	Priofish	Pêche complète 1 passage
	Le Wast	11/06/2012	562000	2639880	Priofish	Pêche complète 1 passage
		07/09/2021	561386	2639570	FD62	Monitoring anguille*
04/09/2018		561386	2639570	FD62	Monitoring anguille*	
07/09/2015		561386	2639570	FD62	Monitoring anguille*	
31/07/2012		561386	2639570	FD62	Monitoring anguille*	
Grigny	Houllefort	07/09/2021	560217	2640982	FD62	Monitoring anguille*
		04/09/2018	560217	2640982	FD62	Monitoring anguille*
		07/09/2015	560217	2640982	FD62	Monitoring anguille*
		31/07/2012	560217	2640982	FD62	Monitoring anguille*
Denâcre	Wimille	10/09/2021	550482	2639814	FD62	Monitoring anguille*
		07/09/2018	550482	2639814	FD62	Monitoring anguille*
		08/09/2015	550482	2639814	FD62	Monitoring anguille*
		31/07/2012	550482	2639814	FD62	Monitoring anguille*

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

Annexe 4 : Résultats en termes de présence/absence des différentes opérations de pêche électrique réalisées sur le contexte Wimereux entre 1988 et 2021

			Wimereux																			
Commune			Wimille					Manninghen-Henne		Pittefau	Conteville-lès-Boulogne					Belle-et-Houllefort	Le Wast					
Date			2012	2012	2015	2018	2021	2009	2017	2021	1988	2012	2012	2015	2018	2021	2013	2012	2021	2018	2015	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
Able de Heckel	ABH	<i>Leucaspis delineatus</i>							X													
Chabot	CHA	<i>Cottus sp.</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Épinoche	EPI	<i>Gasterosteus aculeatus</i>	X	X	X			X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Épinochette	EPT	<i>Pungitius pungitius</i>		X	X								X	X								
Goujon	GOU	<i>Gobio sp.</i>						X	X	X	X	X										
Grémille	GRE	<i>Gymnocephalus cernua</i>									X											
Lamproie ind.	LPx	<i>Lampetra sp.</i>				X	X		X	X												
Lamproie de Planer	LPP	<i>Lampetra planeri</i>	X	X				X		X												
Vairon	VAI	<i>Phoxinus sp.</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</i>	X	X		X	X	X	X	X					X	X		X	X	X		
Truite de mer	TRM	<i>Salmo trutta</i>		X		X	X															
Rotengle	ROT	<i>Scardinius erythrophthalmu</i>			X																	

			Grigny					Denâcre				
Commune			Belle-et-Houllefort	Houllefort					Wimille			
Date			2013	2012	2015	2018	2021	2021	2018	2015	2012	
Anguille	ANG	<i>Anguilla anguilla</i>	X	X	X	X		X	X	X	X	
Able de Heckel	ABH	<i>Leucaspis delineatus</i>										
Chabot	CHA	<i>Cottus sp.</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Épinoche	EPI	<i>Gasterosteus aculeatus</i>	X			X						
Épinochette	EPT	<i>Pungitius pungitius</i>										
Goujon	GOU	<i>Gobio sp.</i>										
Grémille	GRE	<i>Gymnocephalus cernua</i>										
Lamproie ind.	LPx	<i>Lampetra sp.</i>						X				
Lamproie de Planer	LPP	<i>Lampetra planeri</i>								X		
Vairon	VAI	<i>Phoxinus sp.</i>	X	X				X	X	X		
Flet	FLE	<i>Pleuronectidae</i>										
Gardon	GAR	<i>Rutilus rutilus</i>										
Truite fario	TRF	<i>Salmo trutta</i>		X	X		X	X	X	X	X	
Truite de mer	TRM	<i>Salmo trutta</i>										
Rotengle	ROT	<i>Scardinius erythrophthalmu</i>										