



**FISH
PASS**



SCIMABIO *Interface*
science-management interface for biodiversity conservation

Pôle commun ADNe indicateurs de fonctionnalité écologique



Utilisation de l'ADN environnemental pour la détection de l'écrevisse à pattes blanches, des écrevisses invasives et de la peste de l'écrevisse en cours d'eau

Metabarcoding taxons poissons

Bassin versant de la Lawe

Campagne d'échantillonnage Juin 2025



**AGENCE DE L'EAU
ARTOIS - PICARDIE**

Etablissement public du Ministère chargé du développement durable



Pôle thématique ADNe SCIMABIO-Interface/Fish-Pass

Valentin Vasselon (SCIMABIO-Interface)

Eloïse Duval (Fish-Pass)

Novembre 2025



SCIMABIO *Interface*
science-management interface for biodiversity conservation

Les cyclades 8
5, rue des Quatre Vents
74200 Thonon-les-Bains
www.scimabio-interface.fr



**FISH
PASS**

INGÉNIERIE DES MILIEUX AQUATIQUES

Aquatic environment engineering

18 rue de la Plaine - ZA des 3 prés - 35890 LAILLÉ - France
Tél. 33 (0)2 99 77 32 11
Fax. 33 (0)2 99 77 31 96

www.fish-pass.fr



OPOIBI
L'INGÉNIERIE QUALIFIÉE
CERTIFICAT
N° 18 06 3667



Rédaction et relecture du rapport :

Eloïse Duval (FishPass) et Valentin Vasselon (SCIMABIO-Interface)

Maître d'ouvrage de l'étude :

Fédération du Pas-de-Calais pour la Pêche et la Protection du Milieu Aquatique (FD62)

Dossier suivi par :

Benoît Rigault (FD62)

Sommaire

1	Contexte et objectifs de l'étude	3
1.1	Ecrevisse à pattes blanches, invasives et peste	3
1.2	Inventaire taxonomique poissons	3
2	Matériel et méthodes	4
2.1	L'ADN environnemental	4
2.1.1	Détection ciblée des écrevisses et de la peste	4
2.1.2	Metabarcoding poissons	5
2.1.3	Stratégie et protocole d'échantillonnage	6
2.2	Analyses de biologie moléculaire	8
2.2.1	Extraction de l'ADN total	8
2.2.2	Suivis spécifiques par ddPCR	8
3	Résultats	9
3.1	Description des stations et validation de l'échantillonnage	9
3.2	Détection spécifique par ddPCR	9
3.2.1	Validation des données	9
3.2.2	Résultats de détection par ADNe dans l'eau	10
4	Inventaire piscicole par metabarcoding	11
5	Conclusions et perspectives	15
6	Bibliographie	16
7	Fiches terrain	18

1 Contexte et objectifs de l'étude

1.1 Ecrevisse à pattes blanches, invasives et peste

L'écrevisse à pattes blanches (*Austropotamobius pallipes*) est l'une des 3 espèces d'écrevisses autochtones retrouvées dans les cours d'eau d'Europe de l'Ouest. Elle peut occuper des habitats diversifiés, mais on la retrouve principalement dans les petits cours d'eau en tête de bassin versant, là où les pressions sont généralement les moins importantes.

En effet, au cours de la dernière décennie, les populations d'écrevisses à pattes blanches ont fortement décliné, plusieurs facteurs pouvant être mis en avant pour expliquer ce phénomène (Alonso et al., 2000; Dunn et al., 2009) :

- La dégradation des milieux aquatiques, à la fois en termes de réduction des habitats (dégradation des berges) et de la qualité de l'eau (états écologique et chimique) ;
- L'introduction d'espèces d'écrevisses non indigènes (allochtones) envahissantes, plus agressives et compétitives (habitat, ressources) que les espèces autochtones ;
- L'apparition de maladies, souvent liée à l'introduction d'espèces allochtones, comme la peste de l'écrevisse causée par l'oomycète *Aphanomyces astaci*.

De ce fait, l'écrevisse à pattes blanches est classée « en danger » sur la liste rouge mondiale de l'IUCN depuis 2010 (Füreder et al., 2010) et « vulnérable » de manière générale en France métropolitaine (MNHN & OFB, 2003). L'espèce fait l'objet de mesures réglementaires de protection (habitat, pêche, transport) et différents programmes de conservation sont mis en place par les gestionnaires, notamment un plan national d'actions décliné au niveau régional.

C'est dans ce contexte que la FD62 a souhaité mieux appréhender la distribution de l'écrevisse à pattes blanches (*Austropotamobius pallipes*), des invasives écrevisse de Californie (*Pacifastacus leniusculus*), écrevisse américaine (*Faxonius limosus*), et écrevisse de Louisiane (*Procambarus clarkii*), et de la peste de l'écrevisse (*Aphanomyces astaci*) sur le bassin versant de la Lawe.

1.2 Inventaire taxonomique poissons

Les échantillons prélevés sur les 8 stations du bassin de la Lawe ont également été analysés en metabarcoding poissons, afin d'obtenir une liste des taxons détectés sur les différentes stations. Cette analyse s'intègre dans la continuité du Plan de Gestion Départemental pour la Protection des milieux aquatiques et la Gestion des ressources piscicoles du Pas-de-Calais (PDPG 2018-2022), en complément des autres suivis réalisés sur le secteur (pêche électrique, suivi de frayères...).

2 Matériel et méthodes

2.1 L'ADN environnemental

L'ADN environnemental (ADNe) peut être défini comme l'ADN total pouvant être extrait à partir d'un échantillon environnemental (eau, biofilm, sol, air...) sans avoir à isoler au préalable les individus qui vivent dans le milieu (Taberlet et al., 2012). Pour les milieux aquatiques, comme les lacs et les rivières, l'ADNe extrait à partir d'un échantillon d'eau intègre à la fois l'ADN des microorganismes vivant dans l'eau (bactéries, microalgues, champignons...), mais aussi l'ADN libéré par les macroorganismes au contact du milieu sous différentes formes (Figure 1; Pawlowski et al., 2020). En fonction des matrices environnementales échantillonnées (eau, biofilm, sédiment) et des techniques déployées en laboratoire, il est possible de réaliser des inventaires de diversité ou le suivi d'espèces d'intérêt grâce à l'ADN des individus retrouvé dans l'environnement.

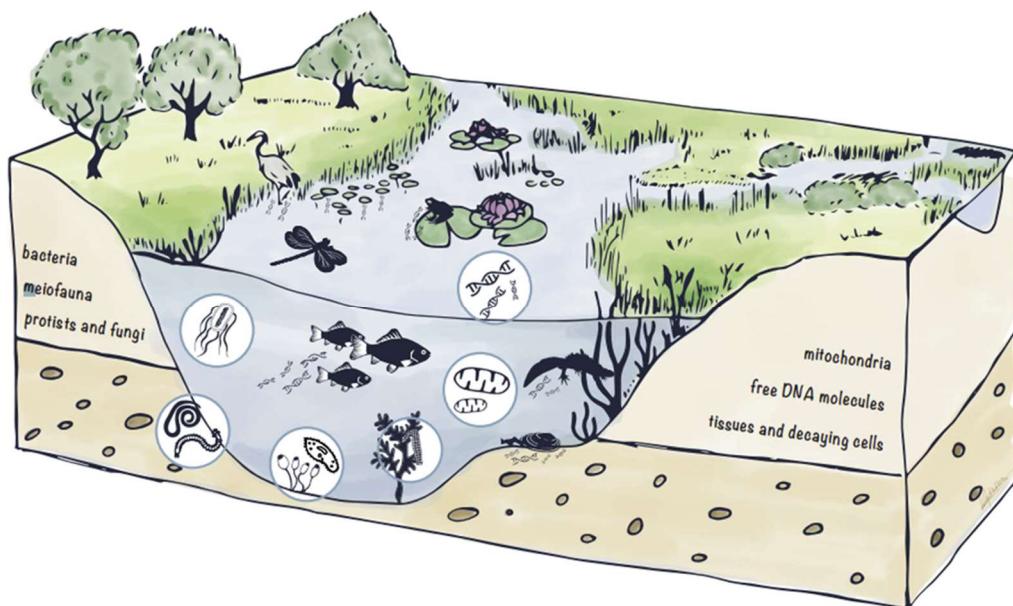


Figure 1. Origine et forme de l'ADN environnemental dans les milieux aquatiques (Pawlowski et al., 2020)

2.1.1 Détection ciblée des écrevisses et de la peste

Les écrevisses relarguent généralement très peu d'ADN dans leur environnement, conséquence de leur organisme comprenant un exosquelette composé majoritairement de chitine qui laisse très peu de place pour l'excration de mucus (Dougherty et al., 2016).

Afin de maximiser les chances de détecter le signal ADNe potentiellement relargué par les écrevisses dans l'eau, potentiellement présent en très faible quantité, l'approche de détection ciblée d'ADN par dPCR (Digital PCR) a été privilégiée.

La dPCR est une technique de biologie moléculaire qui permet de cibler et d'amplifier une région génétique propre à une espèce via l'utilisation d'amorces et de sondes génétiques fluorescentes spécifiques (Doi et al., 2015; Figure 2). A partir d'un échantillon d'ADNe, il est donc possible de détecter et de quantifier par fluorescence le nombre de copies du gène spécifique ciblé dans un échantillon d'eau. Les nouvelles technologies de dPCR comme la ddPCR QX600 (Droplet Digital PCR, Biorad) offrent

même la possibilité de co-détecter en une seule analyse jusqu'à 6 signaux de fluorescence dans un échantillon ADNe, donc jusqu'à 6 espèces distinctes. Cette technologie est parfaitement adaptée à des suivis multispécifiques.

Grâce à cette approche de biologie moléculaire, **les signaux ADNe de 5 espèces d'intérêt ont pu être suivis dans cette étude : *A. pallipes*, *P. leniusculus*, *P. clarkii*, *F. limosus* et l'agent de la peste *A. astaci***. Pour ce dernier le signal détecté est à interpréter avec précaution car il pourrait également correspondre à d'autres espèces du même genre, potentiellement non pathogènes (Viljamaa-Dirks & Heinikainen, 2019).

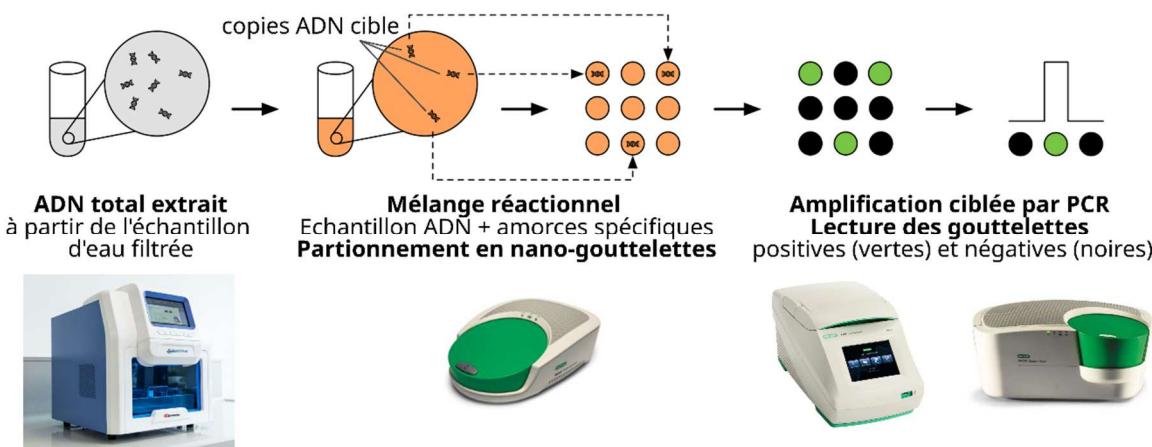


Figure 2. Schéma de fonctionnement de la ddPCR et appareils associés (automate d'extraction, générateur de gouttelettes, thermocycleur et lecteur de gouttelettes), modifié à partir de Mojarral et al. (2017).

2.1.2 Metabarcoding poissons

Une liste des taxons détectées aux différents points de prélèvements a été obtenue par la technique dite du metabarcoding réalisée par le laboratoire Argaly. Cette méthode permet d'amplifier une région cible, présente chez toutes les espèces de poissons par le biais d'amores spécifiques à ce groupe. Cette région cible est ensuite amplifiée puis séquencée avant de pouvoir assigner les différentes séquences obtenues à des espèces/groupes d'espèces grâce à une base de données génétiques regroupant les séquences disponibles (Ruppert et al., 2019). L'analyse en bioinformatique des données de séquençage permet d'assigner un certain pourcentage de séquences lues aux différentes espèces référencées dans une base de données (Figure 3). Le metabarcoding permet ainsi d'obtenir un inventaire de la liste des espèces piscicoles détectées aux différents points de prélèvement.

Les résultats de l'analyse par metabarcoding sont présentés sous forme de pourcentage de séquences ADN assignées aux différentes espèces détectées, indiquant également le nombre de répliques techniques positifs. Chaque station (un pool des 3 répliques de terrain) est analysée en 8 répliques techniques, avec le marqueur Fish16S (Shaw et al., 2016).

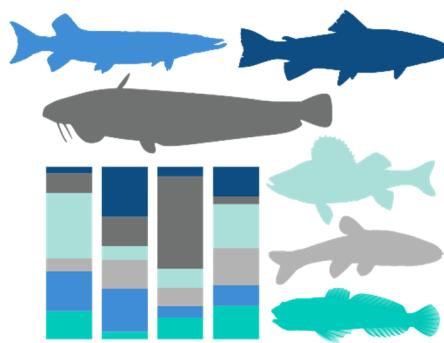


Figure 3. Illustration de résultats obtenus en metabarcoding. Les graphes empilés représentent le pourcentage de séquences assignées aux différentes espèces sur 4 prélèvements différents.

Toutefois, une espèce fortement abondante, et/ou qui relargue beaucoup d'ADN au moment du prélèvement se voir assigner un fort nombre et donc pourcentage de séquences. A l'inverse, une espèce présente en faible densité ou relarguant peu d'ADN dans son milieu obtient un faible pourcentage de séquences assignées à son espèce. De ce fait, les espèces peu abondantes risquent de ne pas pouvoir être détectées en présence d'espèces qui relarguent beaucoup d'ADN (Bylemans et al., 2019).

2.1.3 Stratégie et protocole d'échantillonnage

L'échantillonnage pour détection d'ADN a été réalisé par la FD62 sur 8 stations du bassin de la Lawe, dont 6 sur le linéaire principal et 2 sur des affluents, la Brette et la Biette.

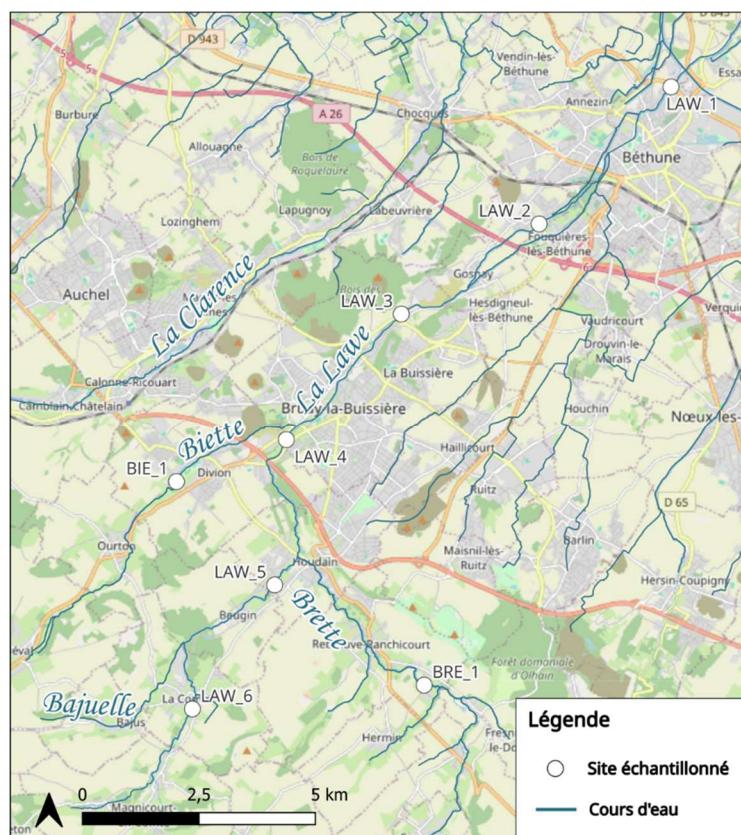


Figure 4. Localisation des 8 stations sur le bassin de la Lawe. Fond de carte: ©OpenStreetMap

2.1.3.1 Caractérisation des stations échantillonnées

Une fiche descriptive de la station a été complétée sur le terrain par la FD62 sur chaque station lors de la mise en place de l'échantillonnage, elles sont retranscrites en fin de rapport.

2.1.3.2 Echantillonnage eau de rivière

2.1.3.2.1 Capsules de filtration Sterivex

Des échantillons ADNe correspondant à des prélèvements d'eau filtrée ont été collectés par la FD62 en 3 répliques sur chaque station en suivant le protocole fourni avec le matériel d'échantillonnage. Les grandes étapes sont rappelées brièvement (Figure 4) :

- 4 prélèvements d'eau de 250 mL ont été réalisés dans la mesure du possible à 5-20 cm de profondeur à différents endroits de la station pour couvrir la largeur de la rivière. Les prélèvements ont ensuite été mélangés dans un bidon décontaminé pour atteindre un volume total d'eau de 1L.
- L'eau a ensuite été filtrée sur des capsules « Sterivex » de porosité 0.45µm à l'aide d'une seringue 60 mL, ce jusqu'à ce que la filtration ne soit plus possible à cause du colmatage du filtre (entre 200 et 2000 mL selon la turbidité de l'eau).
- Une fois la filtration terminée, l'eau résiduelle a été expulsée du « Sterivex » en faisant une chasse d'air avec la seringue, puis 2mL de solution de préservation MC1 ont été ajoutés à l'échantillon filtré pour le préserver. Les échantillons ont ensuite été maintenus à température ambiante ou à 4°C jusqu'à extraction de l'ADN en laboratoire.

3 échantillons d'eau filtrée par capsule Sterivex ont été obtenus par station et envoyés à SCIMABIO pour analyse.



Figure 5. Illustration des étapes de prélèvement, de filtration et de préservation des échantillons d'eau filtrée (capsule Sterivex).

2.2 Analyses de biologie moléculaire

2.2.1 Extraction de l'ADN total

Les extractions d'ADN total à partir des échantillons d'eau filtrée (Sterivex) ont été réalisées en laboratoire de biologie moléculaire par SCIMABIO avec le kit d'extraction « NucleoMag Water » (Macherey-Nagel). Des contrôles négatifs ont été intégrés lors des expériences d'extraction pour valider la qualité des résultats obtenus et évaluer l'absence de contamination des échantillons environnementaux.

La qualité et la quantité d'ADN total extrait ont ensuite été mesurées au spectrophotomètre NanoDrop™ One/OneC (ThermoFisher) avant l'analyse ddPCR.

2.2.2 Suivis spécifiques par ddPCR

L'analyse ddPCR a été réalisée par SCIMABIO sur les extraits ADN obtenus à partir des échantillons d'eau filtrée. La technologie permettant une quantification absolue sans variabilité, 1 seul réplica technique est nécessaire par échantillon ADN étudié. Toutefois, si la profondeur d'analyse ne répond pas aux critères de satisfaction de la technologie ddPCR, les échantillons peuvent être analysés plusieurs fois jusqu'à atteindre un niveau de qualité satisfaisant permettant leur interprétation écologique. Des échantillons contrôles (positif, négatif) ont été intégrés dans chaque analyse pour valider la qualité des résultats et évaluer la présence potentielle de contamination des échantillons.

Dans le cadre de cette étude il a été proposé de co-déetecter le signal ADNe de 5 espèces via la technologie ddPCR (Bio-rad) : *A. pallipes*, *P. leniusculus*, *P. clarkii*, *F. limosus* et l'agent de la peste *A. astaci* pour les prélèvements d'eau. Le logiciel QX Manager™ (Bio-rad) a été utilisé pour analyser les données de ddPCR. Grâce aux différents témoins négatifs (terrain, extraction, ddPCR), un signal de fluorescence dit basal a été défini pour permettre la validation des détections positives.

Les résultats bruts par échantillon correspondent à un nombre de gouttelettes fluorescentes dites positives pour chaque espèce ramené au nombre total de gouttelettes générées pour l'échantillon. Pour les prélèvements d'eau, la stabilité du signal ADNe a été évaluée en comparant les résultats des 3 réplicas (3 capsules Sterivex), puis les 3 résultats ont été moyennés. Les résultats présentés sont corrigés afin de présenter un nombre de copies de gène de l'espèce ciblée est déterminé par μL d'extrait ADN puis converti en nombre de copies par litre d'eau filtrée.

3 Résultats

3.1 Description des stations et validation de l'échantillonnage

L'ensemble des prélèvements ont été réalisés par la FD62 lors de la campagne de terrain du 16 au 20 Juin 2025. Les conditions d'écoulement ont permis les prélèvements et filtration d'eau pour la recherche d'ADNe dans de bonnes conditions et les échantillons réceptionnés étaient en bon état.

Table 1. Description et mesures physicochimiques des stations étudiées

Site	Cours d'eau	Localisation	Date et heure de prélèvement	Température de l'eau (°C)	Conductivité (µS/cm)	O ₂ (mg/L)	pH	Volume filtré par échantillon (mL)
BIE_1	Biette	Divion	19/06/2025 15:20	16,4	647	10,2	7,6	A 960
								B 840
								C 960
BRE_1	Brette	Rebreuve-Ranchicourt	16/06/2025	15,1	641	10,8	7,7	A 900
								B 900
								C 1020
LAW_1	Lawe	Béthune	20/06/2025 12:00	18,5	794	8,4	7,6	A 780
								B 780
								C 780
LAW_2	Lawe	Fouquières-lès-Béthune	20/06/2025 11:15	18,0	679	6,4	7,3	A 1020
								B 1080
								C 1080
LAW_3	Lawe	Bruay-la-Buissière	20/06/2025 10:30	15,9	710	10,5	7,4	A 1020
								B 960
								C 900
LAW_4	Lawe	Bruay-la-Buissière	19/06/2025 16:00	16,0	637	11,3	8,0	A 1140
								B 1260
								C 1140
LAW_5	Lawe	Houdain	19/06/2025 12:00	14,7	638	11,2	7,6	A 1080
								B 1140
								C 1080
LAW_6	Lawe	La Comté	19/06/2025 11:20	13,8	649	11,3	7,8	A 840
								B 840
								C 960

Les volumes d'eau filtrée sont répétables entre les réplicas (Table 1). Le volume total filtré par station oscille entre 2340 et 3540mL pour 7 stations, volume jugé suffisant pour la mise en place de l'extraction de l'ADN total et l'analyse pour la recherche spécifique par ddPCR, tout comme pour le metabarcoding poissons.

3.2 Détection spécifique par ddPCR

3.2.1 Validation des données

Un contrôle qualité des runs de ddPCR a été réalisé pour s'assurer qu'un nombre suffisant de gouttelettes soit obtenu pour chaque station (>10 000) et ainsi permettre une profondeur d'analyse suffisante. Lorsque ce nombre n'était pas atteint, les échantillons concernés sont réanalysés jusqu'à l'obtention d'un nombre suffisant de gouttelettes.

Les témoins d'extraction et ddPCR ont tous donné des résultats négatifs pour l'amplification de l'ADN de *A. pallipes*, *A. astaci*, *F. limosus*, *P. clarkii* et *P. leniusculus*. Des témoins positifs constitués d'extrait ADN de tissu ou de culture pour les 5 espèces recherchées ont donné des résultats positifs, validant la mise en place de l'approche ddPCR. Ces échantillons ont servi de témoins afin d'identifier le seuil de discrimination des gouttelettes positives et négatives.

3.2.2 Résultats de détection par ADNe dans l'eau

Les résultats de la détection de *A. pallipes*, *A. astaci*, *F. limosus*, *P. clarkii* et *P. leniusculus* par ddPCR à partir des extraits ADN obtenus à partir des échantillons d'eau filtrée sont présentés dans la Table 2.

Etant donné que la majeure partie des résultats étaient négatifs pour la détection des écrevisses, certains échantillons ont été passés plusieurs fois en analyse pour confirmer la détection ou l'absence de détection. La truite *S. trutta* et l'anguille *A. anguilla* ont également été recherchées en tant que témoins environnementaux pour attester de la qualité des échantillons. La truite a bien été retrouvée sur l'ensemble des réplicas testés, ce qui indique que l'absence de détection des taxons d'écrevisses n'est pas due à la qualité des échantillons.

*Table 2. Résultats de l'amplification ciblée de l'ADN de *A. pallipes*, *A. astaci*, *F. limosus*, *P. clarkii* et *P. leniusculus* par ddPCR à partir des échantillons d'eau filtrée. Le nombre de réplicas positifs sur le nombre de réplicas testés est également indiqué.*

Code site	<i>A. astaci</i>		<i>A. pallipes</i>		<i>F. limosus</i>		<i>P. clarkii</i>		<i>P. leniusculus</i>		<i>S. trutta</i>		<i>A. anguilla</i>	
	Copies d'ADN*	Replicas positifs	Copies d'ADN*	Replicas positifs	Copies d'ADN*	Replicas positifs	Copies d'ADN*	Replicas positifs	Copies d'ADN*	Replicas positifs	Copies d'ADN*	Replicas positifs	Copies d'ADN*	Replicas positifs
BIE_1	0	0/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3	-	-	-	-
BRE_1	2,57E+02	2/3	2,09E+01	1/9	0	0/9	0	0/3	0	0/3	1,38E+03	3/3	6,26E+01	1/3
LAW_1	2,57E+02	2/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3	-	-	-	-
LAW_2	0	0/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3	-	-	-	-
LAW_3	0	0/3	0	0/9	3,40E+01	1/9	0	0/3	0	0/3	5,04E+03	3/3	0	0/3
LAW_4	0	0/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3	-	-	-	-
LAW_5	1,78E+02	2/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3	-	-	-	-
LAW_6	0	0/3	0	0/6	0	0/6	0	0/3	0	0/3	9,32E+03	3/3	0	0/3

*Les résultats sont présentés en nombre de copies d'ADN cible par litre d'eau filtrée

➤ Signal ADNe *Austropotamabius pallipes*

Le signal ADNe de l'écrevisse à pattes blanches a été très faiblement détecté sur une seule station (Table 2, Figure 6). Ce signal n'est pas répétable (un seul échantillon positif), bien que chaque réplica de terrain ait été passé 3 fois en analyse. Cela indique une suspicion de présence de l'écrevisse à pattes blanches sur le secteur amont de la Brette qui reste à confirmer. Une population pourrait en effet être présente plus à l'amont sur un des affluents mais le signal détecté est trop faible pour être fiable.

➤ Signal ADNe *Aphanomyces astaci*

Le signal ADNe de l'agent responsable de la peste de l'écrevisse, *A. astaci* a été détecté sur 3 stations (Table 2, Figure 6). Ce signal est répétable, et suggère la présence de l'agent vecteur de la peste de l'écrevisse sur le secteur.

➤ Signaux ADNe des espèces d'écrevisses invasives *Faxonius limosus*, *Procambarus clarkii* et *Pacifastacus leniusculus*

Le signal ADNe de l'écrevisse américaine *F. limosus* a été détecté sur une seule des stations échantillonées (Table 2, Figure 6). Le signal détecté est non répétable sur la station 3 de la Lawe (échantillons passés 3 fois en analyse), et n'est pas retrouvé ailleurs sur le linéaire échantillonné. Cela indique donc une suspicion de présence de l'espèce qui reste à confirmer.

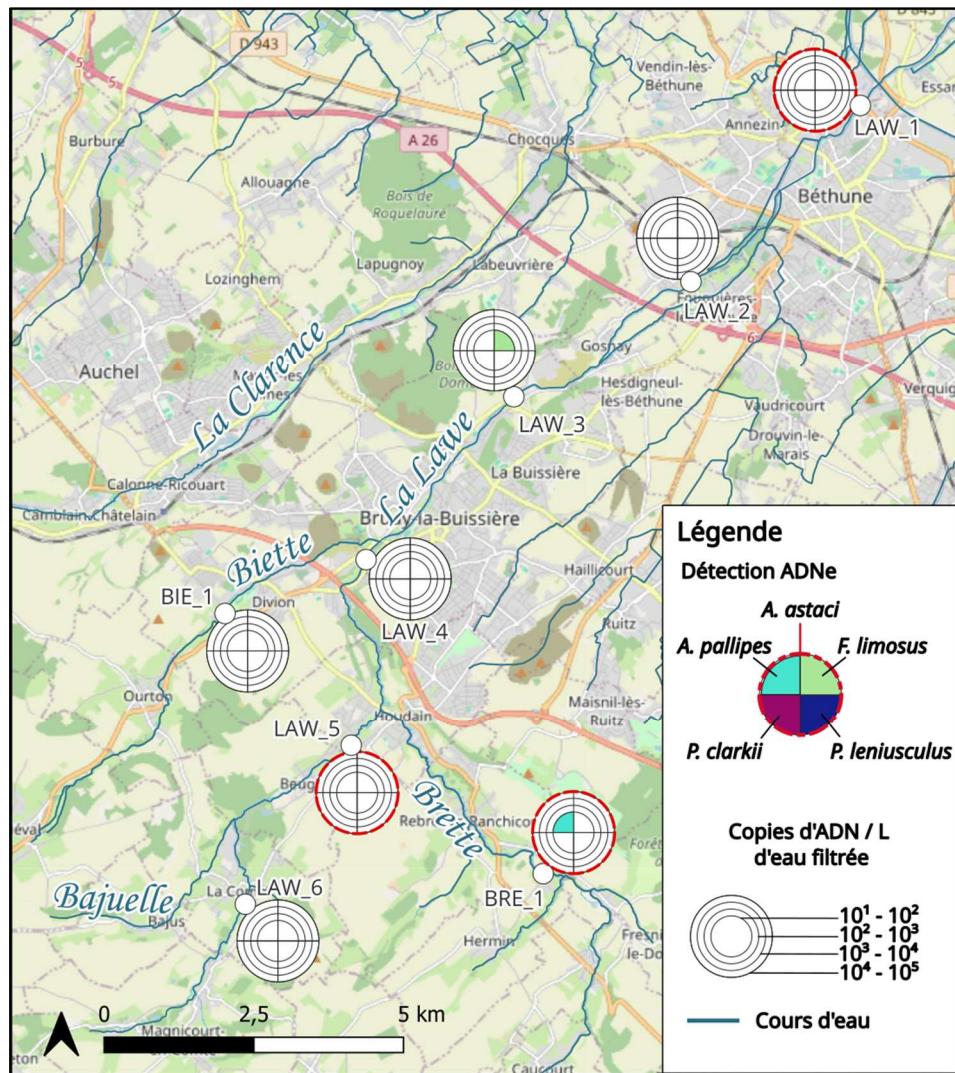


Figure 6. Détection par dddPCR des 4 espèces d'écrevisses (*Austropotamobius pallipes*, *Faxonius limosus*, *Procambarus clarkii* et *Pacifastacus leniusculus*) et de la peste (*Aphanomyces astaci*) à partir des échantillons d'eau filtrée. Fond de carte : ©OpenStreetMap

4 Inventaire piscicole par metabarcoding

Les échantillons prélevés pour la recherche des taxons astacicoles en dPCR ont également été analysés en metabarcoding afin de réaliser des inventaires piscicoles. Un échantillon représente le pool des 3 réplicas de terrain extraits.

En moyenne, 75000 séquences attribuées aux poissons ont été lues par station (55000-104000). Au total, 21 taxons ont été détectés sur l'ensemble des stations prospectées, avec 2 à 19 taxons par station (Figure 7).

Pour certains taxons, appartenant à l'ordre des Cypriniformes, l'assignation n'a pas pu aller jusqu'à l'espèce et s'est arrêtée au genre, ou à un complexe d'espèces. Dans ce dernier cas, les espèces sont ordonnées dans les codes selon la probabilité que les séquences leur soit effectivement attribuée :

- GAR/ROT/TOX : *Rutilus rutilus* (gardon), ou moins probablement *Scardinius erythrophthalmus* (rotengle) ou *Parachondrostoma toxostoma* (toxostome)

- Inventaire piscicole par metabarcoding -

- VAN/IDE : *Leuciscus leuciscus* (vandoise) ou moins probablement *Leuciscus idus* (ide mélanote)
- CHE/ROT/VAN : *Squalius cephalus* (chevesne) ou moins probablement *Scardinius erythrophthalmus* (rotengle) ou *Leuciscus leuciscus* (vandoise)
- Carassius sp/CCO : Carassins ou carpe commune (*Cyprinus carpio*)
- *Cyprinus* sp : poissons du genre *Cyprinus*

Table 3. Liste des taxons détectés et leur classification. Quand l'assignation ne va pas jusqu'à l'espèce, l'alignement des séquences avec l'outil BLAST de NCBI permet d'identifier les taxons les plus probables.

Ordre	Famille	Genre	Assignation	Taxon le plus probable	Nom commun	Code
Cypriniformes	Leuciscidae	<i>Abramis</i>	<i>Abramis brama</i>	<i>Abramis brama</i>	Brème commune	BRE
Anguilliformes	Anguillidae	<i>Anguilla</i>	<i>Anguilla</i>	<i>Anguilla anguilla</i>	Anguille	ANG
Atheriniformes	Atherinidae	<i>Atherina</i>	<i>Atherina boyeri</i>	<i>Atherina boyeri</i>	Joël	ATB
Cypriniformes	Nemacheilidae	<i>Barbatula</i>	<i>Barbatula</i>	<i>Barbatula barbatula</i>	Loche franche	LOF
Perciformes	Cottidae	<i>Cottus</i>	<i>Cottus sp</i>	<i>Cottus sp</i>	Chabot	CHA
Cypriniformes	Cyprinidae	-	Cyprinidae	<i>Carassius sp</i> ou <i>Cyprinus carpio</i>	Carassins / Carpe commune	Carassius sp/CCO
Cypriniformes	Cyprinidae	-	Cyprininae	<i>Cyprinus sp</i>	Cyprinidé du genre <i>Cyprinus</i> (carpes)	Cyprinus sp
Cypriniformes	-	-	Cyprinoidei	<i>Squalius cephalus</i> ou <i>Scardinius erythrophthalmus</i> ou <i>Leuciscus leuciscus</i>	Chevesne ou moins probablement rotengle ou vandoise	CHE/ROT/VAN
Esociformes	Esocidae	<i>Esox</i>	<i>Esox lucius</i>	<i>Esox lucius</i>	Brochet	BRO
Perciformes	Gasterosteidae	<i>Gasterosteus</i>	<i>Gasterosteus</i>	<i>Gasterosteus aculeatus</i>	Épinoche	EPI
Cypriniformes	Gobionidae	<i>Gobio</i>	<i>Gobio</i>	<i>Gobio gobio</i>	Goujon	GOU
Perciformes	Percidae	<i>Gymnocephalus</i>	<i>Gymnocephalus cernua</i>	<i>Gymnocephalus cernua</i>	Grémille	GRE
Cypriniformes	Leuciscidae	-	Leuciscinae	<i>Rutilus rutilus</i> ou <i>Scardinius erythrophthalmus</i> ou <i>Parachondrostoma toxostoma</i>	Gardon ou moins probablement rotengle ou toxostome	GAR/ROT/TOX
Cypriniformes	Leuciscidae	<i>Leuciscus</i>	<i>Leuciscus</i>	<i>Leuciscus leuciscus</i> ou <i>Leuciscus idus</i>	Vandoise ou moins probablement ide mélanote	VAN/IDE
Cypriniformes	Leuciscidae	<i>Leuciscus</i>	<i>Leuciscus leuciscus</i>	<i>Leuciscus leuciscus</i>	Vandoise	VAN
Perciformes	Percidae	<i>Perca</i>	<i>Perca fluviatilis</i>	<i>Perca fluviatilis</i>	Perche	PER
Perciformes	Gasterosteidae	<i>Pungitius</i>	<i>Pungitius pungitius</i>	<i>Pungitius pungitius</i>	Épinochette	EPT
Salmoniformes	Salmonidae	<i>Salmo</i>	<i>Salmo</i>	<i>Salmo trutta</i>	Truite fario	TRF
Salmoniformes	Salmonidae	-	Salmonidae	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Truite arc-en-ciel	TAC
Clupeiformes	Clupeidae	<i>Sardina</i>	<i>Sardina pilchardus</i>	<i>Sardina pilchardus</i>	Sardine	PIL
Cypriniformes	Leuciscidae	<i>Scardinius</i>	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	Rotengle	ROT

Parmi les espèces détectées, 5 présentent un statut de protection particulier, à savoir l'anguille (*Anguilla anguilla*), le brochet (*Esox lucius*), le chabot (*Cottus sp*), la truite fario (*Salmo trutta*) et la vandoise (*Leuciscus leuciscus*, Table 4).

Table 4. Espèces détectées au sein des échantillons prélevés sur le bassin de la Lawe présentant un statut de protection particulier.

Code espèce	Nom vernaculaire	Nom latin	Statut de conservation				Statut de protection					
			LR Hauts-de-France	LR France	LR UE	LR Monde	Directive Habitats & Faune	Convention de Washington (CITES)	Arrêté du 8-12-1988	Convention de Berne	Convention de Barcelone	Convention OSPAR
ANG	Anguille européenne	<i>Anguilla anguilla</i>	CR	CR	CR	CR		II			III	V
BRO	Brochet	<i>Esox lucius</i>	VU	VU	LC	LC			X			
CHA	Chabot	<i>Cottus sp.</i>	LC	LC	LC	LC	II					
TRF	Truite de rivière	<i>Salmo trutta fario</i>	NT	LC	LC	LC			X			
VAN	Vandoise	<i>Leuciscus leuciscus</i>	VU	LC	LC	LC			X			

Les taxons les plus détectés toutes stations confondues sont le chabot et l'épinoche, avec respectivement 39 et 22% du total des séquences lues qui leur sont attribuées (Figure 7). La figure 7 permet de représenter visuellement les taxons retrouvés le plus abondamment dans les prélèvements. La Figure 8 permet de visualiser l'ensemble des taxons détectés, y compris ceux avec une très faible abondance de séquences.

La détection de la sardine *Sardina pilchardus* sur les stations LAW_5 et LAW_6 suggère l'effet d'un rejet ménager, avec une détection qui proviendrait de la consommation humaine de ce poisson (Figure 8).

La station LAW_1 présente la plus forte diversité de taxons détectés (19), ceci étant probablement dû à son positionnement tout à l'aval du linéaire étudié. Sur la station LAW_2, située 4km à l'amont, seuls deux taxons sont retrouvés, à savoir le goujon et l'épinoche (99% des séquences lues). Ceci peut s'expliquer par un très fort relargage d'ADN par les épinoches sur cette station au moment du prélèvement. En effet, étant donnée la diversité obtenue sur les stations LAW_3 et LAW_1 situées de part et d'autre, la présence d'autres espèces sur la station LAW_2 semble masquée par la surabondance d'ADN d'épinoches dans le prélèvement. Cette situation illustre les désagréments de la méthode d'inventaire par metabarcoding lorsqu'une espèce émet beaucoup d'ADN (forte abondance d'individus, activité accrue et/ou période de reproduction avec émission de gamètes).

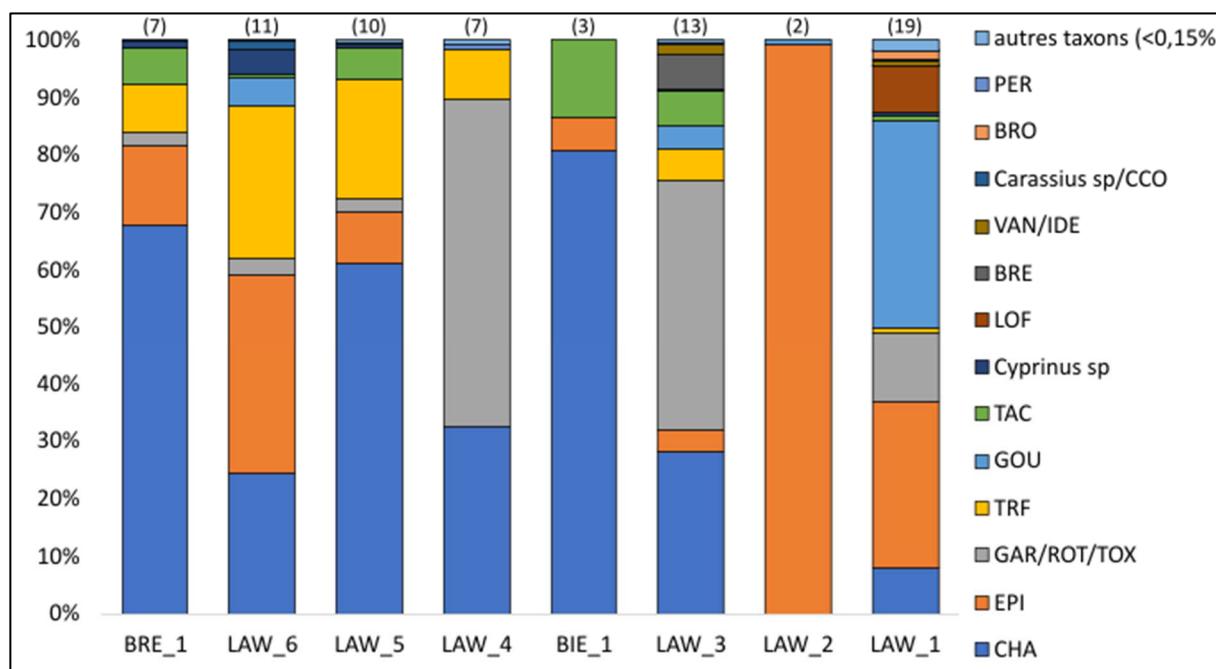


Figure 7. Représentation en histogrammes empilés du pourcentage de séquences attribuées aux différents taxons pour chaque station échantillonnée. La correspondance des codes espèces est disponible en Table 3. Les taxons sont ordonnés en légende du moins abondant au plus abondant. Les stations sont présentées de gauche à droite en allant de l'amont vers l'aval. Le nombre total de taxons détectés est indiqué entre parenthèses.

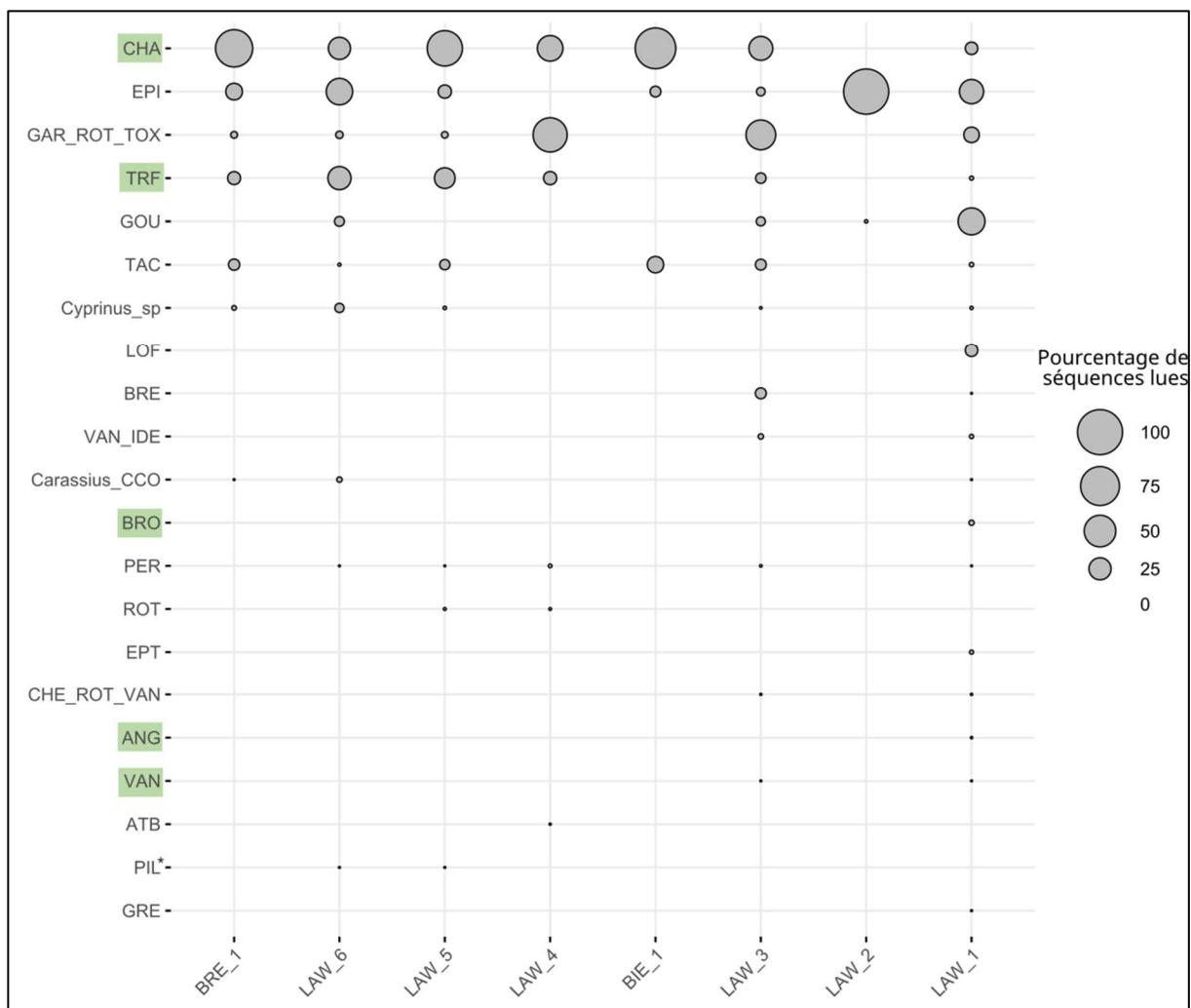


Figure 8. Taxons détectés sur le bassin versant de la Lawe et pourcentage de séquences attribué pour chacune des stations. Les espèces protégées sont indiquées en vert. La sardine (PIL*), détectée sur 2 stations avec une très faible abondance de séquences suggère une contamination des échantillons par rejets ménagers.

Afin de pouvoir comparer les résultats obtenus en metabarcoding avec les données de pêche, la FD62 nous a transmis les tableaux récapitulant les espèces contactées en pêche durant les dernières années. Les stations n'étant pas exactement les mêmes, nous avons conservé les informations des pêches réalisées le plus à proximité des stations échantillonnées en ADNe. Ainsi, des pêches ont été réalisées en 2013 300m à l'amont de la station LAW_6 et entre les stations LAW_2 (2300m en aval) et LAW_1 (1800m en amont). La station LAW_4 a quant à elle été suivie entre 2010 et 2024 (réseau de suivi OFB) avec au total 10 opérations de pêche électrique. La détection cumulée des espèces lors de ces opérations et la comparaison aux données ADNe 2025 sont présentées en Table 5.

Cette comparaison permet également de trancher quant à la détection de certaines espèces qui pourraient provenir soit de la consommation humaine, soit d'un rejet d'une pisciculture à proximité. Par exemple, la truite arc-en-ciel a été détectée sur 6 des stations prospectées, avec des pourcentages de séquences raisonnables, et elle a également été retrouvée en pêche sur 2 stations de la Lawe, ce qui confirme la présence de spécimens sur le linéaire.

Table 5. Comparaison des résultats ADNe avec les données historiques de pêche.

Code	LAW_6 ADNe	LAW_6_2013 pêche	LAW_4 ADNe	LAW4_2010-2024 pêche	LAW_2 ADNe	LAW_1-2_2013 pêche	LAW_1 ADNe
ANG				X			X
ATB			X				X
BRE				X			X
BRO				X		X	X
Carassius sp/CCO	X						X
CHA	X	X	X	X		X	X
CHE/ROT/VAN							X
Cyprinus sp	X						X
EPI	X	X		X	X	X	X
EPT				X		X	X
GAR/ROT/TOX	X	ROT	X	GAR/ROT			X
GOU	X			X	X	X	X
GRE							X
LOF							X
PER	X		X	X			X
ROT		X	X	X			
Sardina pilchardus*	X						
TAC	X	X		X			X
TRF	X		X	X			X
VAN							X
VAN/IDE							X

Sur la station LAW_6, la majorité des taxons détectés en ADNe ont été trouvés en pêche lors de l'opération menée en 2013, mis à part les carassins/carpes et la truite fario (la détection de la sardine étant très probablement due à un rejet ménager).

Sur la station LAW_4, tous les taxons détectés en ADNe ont également été trouvés en pêche lors des 15 dernières années. Parmi les taxons pêchés, l'anguille, le brochet, l'épinoche, l'épinochette, le goujon et la truite arc-en-ciel n'ont pas été détectés par ADNe. Néanmoins, lors de la pêche de 2024, seuls le chabot, le rotengle et la truite fario ont été trouvés en pêche et ces espèces sont détectées également en ADNe.

Enfin, 5 espèces étaient retrouvées en 2013 sur la station pêchée entre les stations LAW_2 et LAW_1, toutes retrouvées en ADNe sur la station LAW_1, avec seulement l'épinoche et le goujon pour la station LAW_2.

5 Conclusions et perspectives

Détection des espèces astacicoles

La recherche des espèces d'écrevisses sur le bassin de la Lawe indique que le secteur étudié ne semble pas présenter de populations d'écrevisses, qu'elles soient autochtones (écrevisse à pattes blanches) ou invasives (écrevisse américaine, écrevisse signal ou écrevisse de Louisiane). Néanmoins, de très faibles signaux, non répétables malgré une analyse répétée des échantillons sur les stations concernées, pourraient indiquer la présence d'écrevisses à pattes blanches à l'amont de la station sur la Brette, et d'écrevisses américaines à l'amont de la station LAW_3. Une investigation plus fine sur ces secteurs permettrait de trancher quant à la véritable présence de ces espèces. La peste de l'écrevisse a été détectée sur 3 des stations échantillonnées. Cependant, le marqueur utilisé pourrait également amplifier d'autres espèces du genre *Aphanomyces*, non pathogènes, c'est pourquoi sa

détection est à considérer avec précautions, d'autant que ce parasite ne peut survivre que quelques semaines dans le milieu sans la présence d'hôtes écrevisses (WOAH, 2019).

Metabarcoding poissons

L'analyse en metabarcoding a détecté un total de 21 taxons sur les 8 stations échantillonnées. Les résultats obtenus sont à mettre en parallèle avec les connaissances des gestionnaires sur les espèces que l'on s'attend à trouver sur ce secteur, notamment lorsque l'assignation ne va pas jusqu'à l'espèce, ou lorsque des taxons sont retrouvés en faible abondance alors qu'ils ne sont pas censés être présents (ex. sardine, issue de rejets ménagers). Les stations prélevées sur le cours principal de la Lawe présentent une diversité de taxons détectés plus importante que sur la Biette et la Brette, sauf pour la station LAW_2 sur laquelle une surabondance d'ADN d'épinoche empêche très probablement la détection des autres espèces en présence.

6 Bibliographie

Alonso, F., Temiño, C., & Diéguez-Uribeondo, J. (2000). Status of the white-clawed crayfish, *Austropotamobius pallipes* (Lereboullet, 1858), in Spain : Distribution and legislation. *Bulletin Français de La Pêche et de La Pisciculture*, 356, 31-53. <https://doi.org/10.1051/kmae:2000003>

Bylemans, J., Gleeson, D. M., Duncan, R. P., Hardy, C. M., & Furlan, E. M. (2019). A performance evaluation of targeted eDNA and eDNA metabarcoding analyses for freshwater fishes. *Environmental DNA*, 1(4), 402-414. <https://doi.org/10.1002/edn3.41>

Doi, H., Uchii, K., Takahara, T., Matsuhashi, S., Yamanaka, H., & Minamoto, T. (2015). Use of Droplet Digital PCR for Estimation of Fish Abundance and Biomass in Environmental DNA Surveys. *PLOS ONE*, 10(3), Article 3. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122763>

Dougherty, M. M., Larson, E. R., Renshaw, M. A., Gantz, C. A., Egan, S. P., Erickson, D. M., & Lodge, D. M. (2016). Environmental DNA (eDNA) detects the invasive rusty crayfish *Orconectes rusticus* at low abundances. *Journal of Applied Ecology*, 53(3), 722-732. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12621>

Dunn, J. C., McClymont, H. E., Christmas, M., & Dunn, A. M. (2009). Competition and parasitism in the native White Clawed Crayfish *Austropotamobius pallipes* and the invasive Signal Crayfish *Pacifastacus leniusculus* in the UK. *Biological Invasions*, 11(2), 315-324. <https://doi.org/10.1007/s10530-008-9249-7>

Füreder, L., Gherardi, F., Holdich, D., Reynolds, J., Sibley, P., & Souty-Grosset, C. (2010). *Austropotamobius pallipes* : Füreder, L., Gherardi, F., Holdich, D., Reynolds, J., Sibley, P. & Souty-Grosset, C.: The IUCN Red List of Threatened Species 2010: e.T2430A9438817 [Jeu de données]. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2010-3.RLTS.T2430A9438817.en>

MNHN, & OFB. (2003, 2023). *Fiche de Austropotamobius pallipes* (Lereboullet, 1858). Inventaire national du patrimoine naturel (INPN).

Mojarro, A., Hachey, J., Bailey, R., Brown, M., & Doebler, R. (2017, mars 21). *Nucleic Acid Extraction and Sequencing from Low-Biomass Synthetic Mars Analog Soils*. *Lunar & Planetary Science XLVIII*, Woodlands, Texas.

- Bibliographie -

Pawlowski, J., Apothéloz-Perret-Gentil, L., & Altermatt, F. (2020). Environmental DNA : What's behind the term? Clarifying the terminology and recommendations for its future use in biomonitoring. *Molecular Ecology*, 29(22), Article 22. <https://doi.org/10.1111/mec.15643>

Ruppert, K. M., Kline, R. J., & Rahman, M. S. (2019). Past, present, and future perspectives of environmental DNA (eDNA) metabarcoding : A systematic review in methods, monitoring, and applications of global eDNA. *Global Ecology and Conservation*, 17, e00547. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2019.e00547>

Shaw, J. L. A., Clarke, L. J., Wedderburn, S. D., Barnes, T. C., Weyrich, L. S., & Cooper, A. (2016). Comparison of environmental DNA metabarcoding and conventional fish survey methods in a river system. *Biological Conservation*, 197, 131-138. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2016.03.010>

Taberlet, P., Coissac, E., Hajibabaei, M., & Rieseberg, L. H. (2012). Environmental DNA : ENVIRONMENTAL DNA. *Molecular Ecology*, 21(8), Article 8. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05542.x>

Viljamaa-Dirks, S., & Heinikainen, S. (2019). A tentative new species *Aphanomyces fennicus* sp. Nov. Interferes with molecular diagnostic methods for crayfish plague. *Journal of Fish Diseases*, 42(3), 413-422. <https://doi.org/10.1111/jfd.12955>

WOAH. (2019). INFECTION WITH *APHANOMYCES ASTACI* (CRAYFISH PLAGUE). In *Manual of diagnostic tests for aquatic animals*.

7 Fiches terrain

Fiche station BIE_1			
Désignation station			
Cours d'eau	Biette	Commune	Divion / passerelle à côté de la salle Georges
Date et heure prélèvement	19/06/2025 15:20	Météo	Carpentier
Structure	FD62		
Description du point de prélèvement			
Faciès d'écoulement	lotique	Largeur mouillée (m)	2,00
Vitesse estimée (cm/s)	25-75	Hauteur d'eau (cm)	13
Limpidité	moyenne	Coloration	légèrement colorée
Colmatage	fort	Ombrage	fermé
Volume total filtré (mL)	2760	Nombre d'échantillons	3
Mesures physico-chimiques			
Température eau (°C)	16,4	Conductivité (µS)	647
Concentration O ₂ (mg/L)	10,2	Saturation O ₂ (%)	103
pH	7,6		
Remarques	-		



- Fiches terrain -

Fiche station BRE_1			
Désignation station			
Cours d'eau	Brette	Commune	Rebreuve-Ranchicourt / 10m aval pont rue d'Hermin
Date et heure prélèvement	16/06/2025 14:40	Météo	-
Structure	FD62		
Description du point de prélèvement			
Faciès d'écoulement	lotique	Largeur mouillée (m)	6,30
Vitesse estimée (cm/s)	25-75	Hauteur d'eau (cm)	15
Limpidité	moyenne	Coloration	légèrement colorée
Colmatage	fort	Ombrage	fermé
Volume total filtré (mL)	2820	Nombre d'échantillons	3
Mesures physico-chimiques			
Température eau (°C)	15,1	Conductivité (µS)	641
Concentration O₂ (mg/L)	10,8	Saturation O₂ (%)	107
pH	7,7		
Remarques	-		



- Fiches terrain -

Fiche station LAW_1

Désignation station

Cours d'eau	Lawe	Commune	Béthune 20m amont D937
Date et heure prélèvement	20/06/2025 12:00	Météo	-
Structure	FD62		

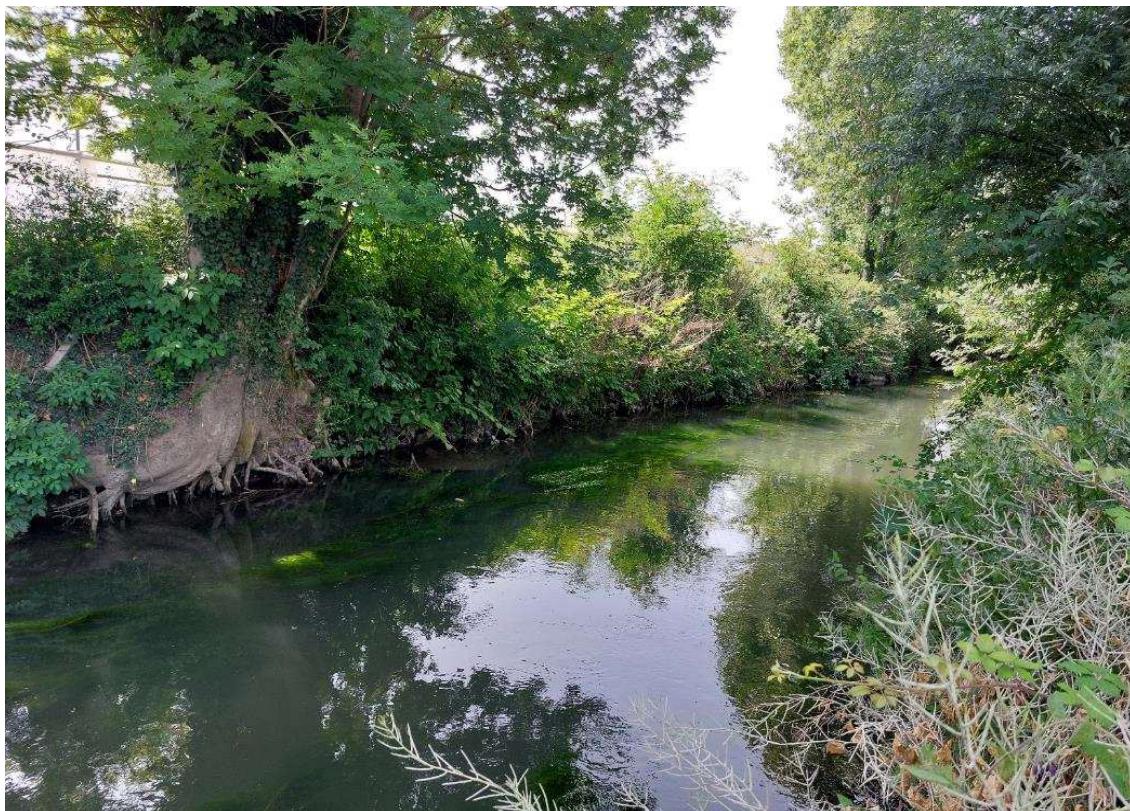
Description du point de prélèvement

Faciès d'écoulement	lentique	Largeur mouillée (m)	6,70
Vitesse estimée (cm/s)	5-25	Hauteur d'eau (cm)	80
Limpidité	faible	Coloration	très colorée
Colmatage	fort	Ombrage	semi-ouvert
Volume total filtré (mL)	2340	Nombre d'échantillons	3

Mesures physico-chimiques

Température eau (°C)	18,5	Conductivité (µS)	794
Concentration O ₂ (mg/L)	8,4	Saturation O ₂ (%)	88
pH	7,6		

Remarques



- Fiches terrain -

Fiche station LAW_2			
Désignation station			
Cours d'eau	Lawe	Commune	Fouquières-lès-Béthune 10m aval A26 bras droit
Date et heure prélèvement	20/06/2025 11:15	Météo	-
Structure	FD62		
Description du point de prélèvement			
Faciès d'écoulement	lentique	Largeur mouillée (m)	3,80
Vitesse estimée (cm/s)	<5	Hauteur d'eau (cm)	50
Limpidité	moyenne	Coloration	légèrement colorée
Colmatage	fort	Ombrage	ouvert
Volume total filtré (mL)	3180	Nombre d'échantillons	3
Mesures physico-chimiques			
Température eau (°C)	18,0	Conductivité (µS)	679
Concentration O₂ (mg/L)	6,4	Saturation O₂ (%)	67
pH	7,3		
Remarques	diffluent bras droit		



- Fiches terrain -

Fiche station LAW_3			
Désignation station			
Cours d'eau	Lawe	Commune	Bruay-la-Buissière aval pont Ru du Herlin
Date et heure prélèvement	20/06/2025 10:30	Météo	-
Structure	FD62		
Description du point de prélèvement			
Faciès d'écoulement	lotique	Largeur mouillée (m)	5,00
Vitesse estimée (cm/s)	25-75	Hauteur d'eau (cm)	30
Limpidité	faible	Coloration	très colorée
Colmatage	fort	Ombrage	semi-ouvert
Volume total filtré (mL)	2880	Nombre d'échantillons	3
Mesures physico-chimiques			
Température eau (°C)	15,9	Conductivité (µS)	710
Concentration O ₂ (mg/L)	10,5	Saturation O ₂ (%)	105
pH	7,4		
Remarques	-		



- Fiches terrain -

Fiche station LAW_4			
Désignation station			
Cours d'eau	Lawe	Commune	Bruay-la-Buissière parc de la Lawe
Date et heure prélèvement	19/06/2025 16:00	Météo	-
Structure	FD62		
Description du point de prélèvement			
Faciès d'écoulement	lotique	Largeur mouillée (m)	6,50
Vitesse estimée (cm/s)	25-75	Hauteur d'eau (cm)	50
Limpidité	moyenne	Coloration	légèrement colorée
Colmatage	fort	Ombrage	fermé
Volume total filtré (mL)	3540	Nombre d'échantillons	3
Mesures physico-chimiques			
Température eau (°C)	16,0	Conductivité (µS)	637
Concentration O ₂ (mg/L)	11,3	Saturation O ₂ (%)	113
pH	8,0		
Remarques	-		



- Fiches terrain -

Fiche station LAW_5			
Désignation station			
Cours d'eau	Lawe	Commune	Houdain 10m amont passerelle piétonne
Date et heure prélèvement	19/06/2025 12:00	Météo	-
Structure	FD62		
Description du point de prélèvement			
Faciès d'écoulement	lotique	Largeur mouillée (m)	4,30
Vitesse estimée (cm/s)	25-75	Hauteur d'eau (cm)	25
Limpidité	moyenne	Coloration	légèrement colorée
Colmatage	fort	Ombrage	fermé
Volume total filtré (mL)	3300	Nombre d'échantillons	3
Mesures physico-chimiques			
Température eau (°C)	14,7	Conductivité (µS)	638
Concentration O ₂ (mg/L)	11,2	Saturation O ₂ (%)	103
pH	7,6		
Remarques	-		



- Fiches terrain -

Fiche station LAW_6			
Désignation station			
Cours d'eau	Lawe	Commune	La Comté 5m amont pont rue du Château
Date et heure prélèvement	19/06/2025 11:20	Météo	-
Structure	FD62		
Description du point de prélèvement			
Faciès d'écoulement	lotique	Largeur mouillée (m)	2,85
Vitesse estimée (cm/s)	25-75	Hauteur d'eau (cm)	25
Limpidité	moyenne	Coloration	légèrement colorée
Colmatage	fort	Ombrage	semi-ouvert
Volume total filtré (mL)	2640	Nombre d'échantillons	3
Mesures physico-chimiques			
Température eau (°C)	13,8	Conductivité (µS)	649
Concentration O ₂ (mg/L)	11,3	Saturation O ₂ (%)	108
pH	7,8		
Remarques	-		

