



Etude ADNe multi-contextes sur le bassin de la Lys pour la détection de :

- l'écrevisse à pattes blanches, les écrevisses invasives et la peste de l'écrevisse
 - *Tetracapsuloides bryosalmonae* et *Fredericella sultana* (contexte PKD)
- taxons de poissons en metabarcoding

Campagne d'échantillonnage Août 2025



Pôle thématique ADNe SCIMABIO-Interface/Fish-Pass

Valentin Vasselon (SCIMABIO-Interface)

Eloïse Duval (Fish-Pass)

Décembre 2025



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



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



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 (FDAAPPMA62)

Dossier suivi par :

Benoît Rigault (FDAAPPMA62)

Sommaire

1	Contexte et objectifs de l'étude	3
1.1	Ecrevisse à pattes blanches, invasives et peste	3
1.2	<i>Tetracapsuloides bryosalmonae</i> , parasite responsable de la PKD et son hôte bryozoaire <i>Fredericella sultana</i>	3
1.3	Inventaire taxonomique poissons	4
2	Matériel et méthodes	5
2.1	L'ADN environnemental	5
2.1.1	Détection ciblée des écrevisses et de la peste, et du système PKD (<i>T. bryosalmonae</i> – <i>F. sultana</i>)	5
2.1.2	Metabarcoding poissons	7
2.1.3	Stratégie et protocole d'échantillonnage	7
2.2	Analyses de biologie moléculaire	9
2.2.1	Extraction de l'ADN total	9
2.2.2	Suivis spécifiques par ddPCR	9
3	Résultats	10
3.1	Description des stations et validation de l'échantillonnage	10
3.2	Détection spécifique par ddPCR	11
3.2.1	Validation des données	11
3.2.2	Résultats de détection par ADNe dans l'eau : contexte écrevisses	11
3.2.3	Résultats de détection par ADNe dans l'eau : contexte PKD	13
4	Inventaires piscicoles par metabarcoding	14
5	Conclusions et perspectives	20
6	Bibliographie	21
7	Fiches terrain	24

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'UICN 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.

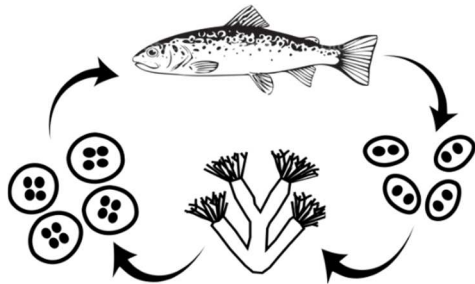
C'est dans ce contexte que la FDAAPPMA62 a souhaité mieux appréhender la distribution de l'écrevisse à pattes blanches (*Austropotamobius pallipes*), des invasives écrevisse de Californie (*Pacifastacus leniusculus*), écrevisse américaine (*Faxonius limosus*), et écrevisse de Louisiane (*Procambarus clarkii*), et de la peste de l'écrevisse (*Aphanomyces astaci*) sur 17 stations du bassin versant de la Lys.

1.2 *Tetracapsuloides bryosalmonae*, parasite responsable de la PKD et son hôte bryzoaire *Fredericella sultana*

La maladie rénale proliférative, MRP ou PKD pour proliférative kidney disease en anglais est une maladie infectieuse émergente causée par le parasite myxozoaire *Tetracapsuloides bryosalmonae*. Au cours des dernières décennies, de plus en plus d'épidémies de MRP ont été reportées au sein de populations de salmonidés d'Europe et d'Amérique du Nord (Hedrick et al., 1993; Sudhagar et al., 2020). Cette maladie est en effet responsable de pertes importantes en aquaculture et de déclin inquiétants des populations de salmonidés sauvages, avec jusqu'à 95 % de mortalité signalée dans les fermes piscicoles (Okamura et al., 2011). En outre, plusieurs études ont montré que le déclin de la truite fario (*Salmo trutta*) dans les rivières suisses était lié au développement de la MRP (Burkhardt-Holm & Scheurer, 2007; Wahli et al., 2007).

Ce parasite a un cycle de vie complexe et alterne entre deux hôtes : un poisson salmonidé et un bryzoaire, plus particulièrement de l'espèce *Fredericella sultana* (Tops & Okamura, 2005). L'infection chez les poissons peut rester bénigne, mais certains individus développent des symptômes

de la maladie, particulièrement lorsque la température de l'eau dépasse les 15°C de façon prolongée, qui peuvent aller de la perte d'efficacité liés à des troubles d'acquisition de l'oxygène, pouvant mener dans les cas les plus sévères à une mort par asphyxie (Bruneaux et al., 2017; Hedrick et al., 1993; Okamura et al., 2011). Les jeunes de l'année sont les plus sensibles au développement de la MRP, et les poissons survivant leur première infection semblent développer une immunité car ils ne redéveloppent pas les symptômes lors d'infections ultérieures (Feist & Longshaw, 2006; Foott & Hedrick, 1987).



*Figure 1 : Cycle parasitaire de *T. bryosalmonae*. Les spores infectieuses pour les poissons sont émises par les bryzoaires infectés lorsque la température de l'eau atteint 9°C (Gay et al., 2001). Les spores entrent dans leur hôte poisson par la peau et les branchies, circulent dans le sang jusqu'à atteindre les reins. Après multiplication, les spores sont excrétées par les truites infectées et vont pouvoir infecter de nouvelles colonies de bryzoaires (Okamura et al., 2011).*

En France, la distribution du parasite et le statut d'infection des populations de salmonidés sauvages restent encore largement méconnus. Le parasite, de par sa taille microscopique et son hôte bryzoaire, de par sa distribution sporadique dans les cours d'eau sont difficilement détectables dans leur environnement. Des outils de détection du parasite et de son hôte bryzoaire par détection d'ADN environnemental ont été développés et utilisés pour cartographier leur présence et estimer leur abondance relative dans les cours d'eau (Carraro et al., 2018; Duval, 2022; Fontes et al., 2017). La présente étude vise à cartographier la présence de ces deux espèces sur le bassin de la Lys dans le Pas-de-Calais, en utilisant la méthode ADNe.

1.3 Inventaire taxonomique poissons

Les échantillons prélevés sur les 17 stations du bassin de la Lys 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 2; 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.

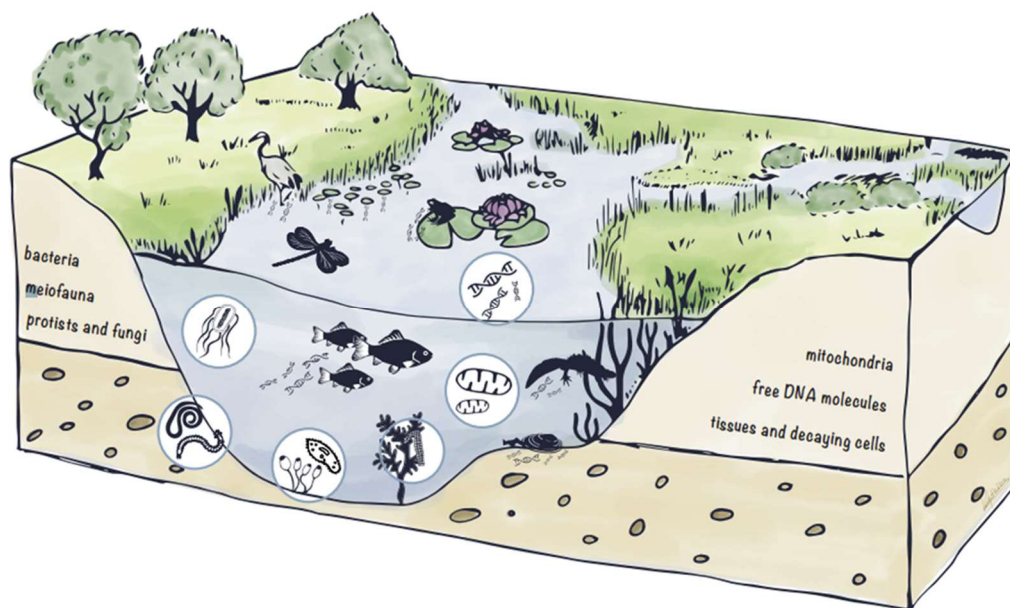


Figure 2. Origine et forme de l'ADN environnemental dans les milieux aquatiques (Pawlowski et al., 2020)

2.1.1 Détection ciblée des écrevisses et de la peste, et du système PKD (*T. bryosalmonae* – *F. sultana*)

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'excrétion de mucus (Dougherty et al., 2016).

Dans le contexte « PKD », le signal ADNe qui est détecté peut provenir directement de spores de *T. bryosalmonae* émises par les poissons infectés via l'urine, par les cellules de bryozoaires porteuses du parasite ou directement par l'intermédiaire de l'ADN des spores présentes dans l'eau. Il est également possible de détecter de l'ADN libre (extracellulaire) provenant de spores dégradées. Pour ce qui est des bryozoaires et de *F. sultana*, le signal ADN détectable peut provenir de cellules ou fragments de colonies emportés par le courant, mais aussi de statoblastes, spores permettant une

reproduction asexuée émises par les colonies sénescents (Hartikainen et al., 2009, 2013; Hartikainen & Okamura, 2015).

En prélevant et en filtrant de l'eau de la rivière, il est possible d'extraire et d'analyser cet ADN pour détecter et dans une certaine mesure quantifier la présence d'une ou plusieurs espèces cibles.

Afin de maximiser les chances de détecter les signaux ADN relargués par les espèces cibles dans l'eau, potentiellement présent en très faible quantité (taille de l'espèce, distribution sporadique, dilution rapide du signal dans l'eau), 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'ADN, 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 ADN, donc jusqu'à 6 espèces distinctes. Cette technologie est parfaitement adaptée à des suivis multispécifiques.

Grâce à cette approche de biologie moléculaire, l'ensemble des espèces ciblées pour cette étude ont pu être recherchées en 2 analyses :

- **les signaux ADN du contexte écrevisses (5 cibles sur 17 stations):** *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).
- **les signaux ADN du contexte PKD (4 cibles sur 6 stations):** *T. bryosalmonae* (2 marqueurs), *F. sultana* et *S. trutta* (témoin environnemental). Deux marqueurs situés sur des régions génétiques différentes ont été utilisés pour *T. bryosalmonae* afin de maximiser la sensibilité de sa détection.

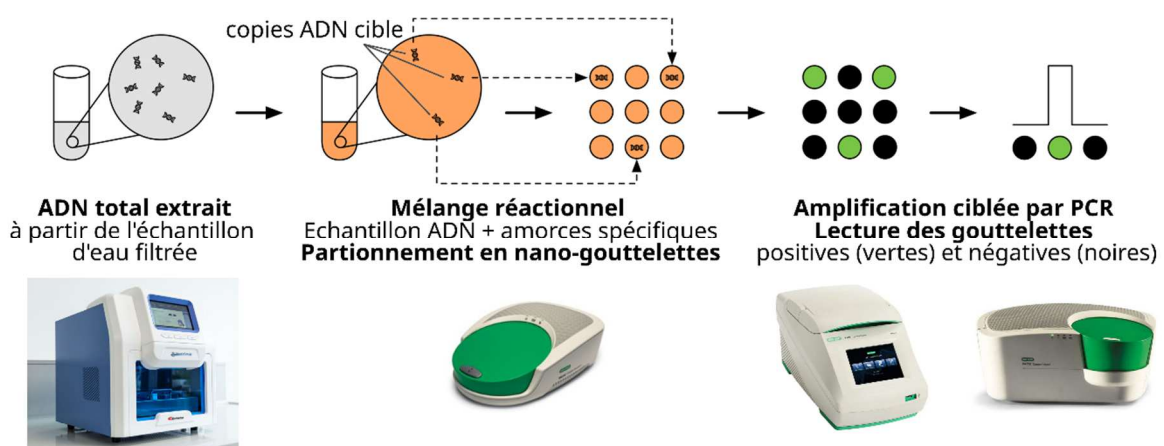


Figure 3. Schéma de fonctionnement de la ddPCR et appareils associés (automate d'extraction, générateur de gouttelettes, thermocycleur et lecteur de gouttelettes), modifié à partir de Mojarro et al. (2017).

2.1.2 Metabarcoding poissons

Une liste des taxons détectés 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'amorces 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 4). 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).

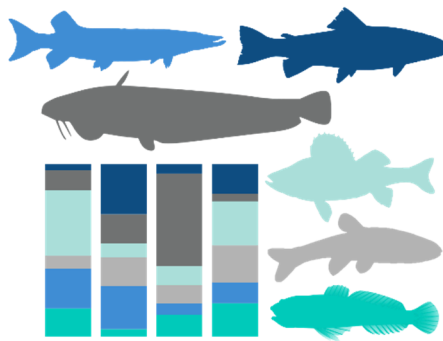


Figure 4. Illustration de résultats obtenus en metabarcoding. Les graphes empilés représentent le pourcentage de séquences assignées aux différentes espèces sur 4 prélèvements différents.

Toutefois, une espèce fortement abondante, et/ou qui relargue beaucoup d'ADN au moment du prélèvement se verra 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'ADNe a été réalisé par la FDAAPPMA62 sur 17 stations du bassin de la Lys, avec 10 stations réparties sur le linéaire principal, une station sur la Traxenne, 4 stations sur la Laquette et 2 stations sur le Surgeon.

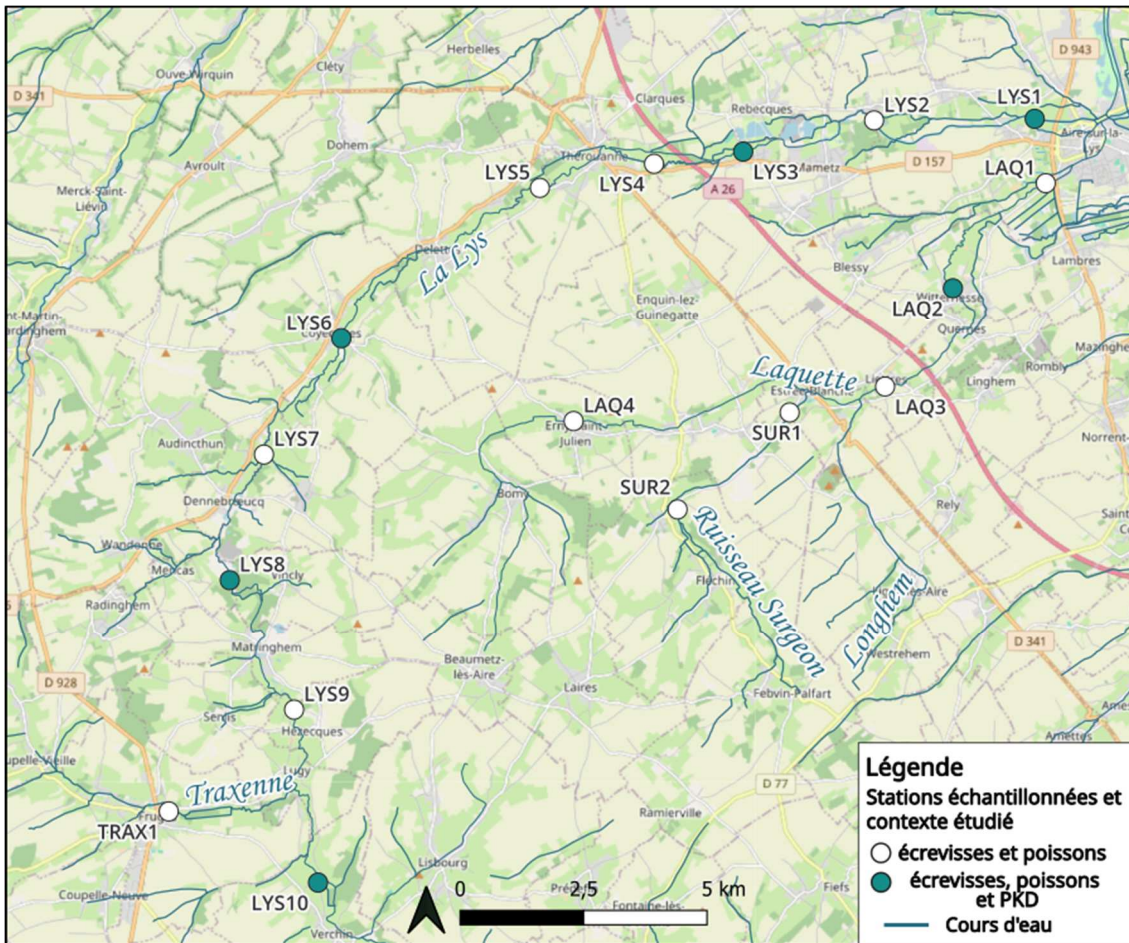


Figure 5. Localisation des 17 stations sur le bassin de la Lys. Fond de carte: ©OpenStreetMap

2.1.3.1 Caractérisation des stations échantillonnées

Une fiche descriptive de la station a été complétée sur le terrain par la FDAAPPMA62 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 et filtration sur capsules Sterivex

Des échantillons ADNe correspondant à des prélèvements d'eau filtrée ont été collectés par la FDAAPPMA62 en 3 répliques sur chaque station en suivant le protocole fourni avec le matériel d'échantillonnage. Les grandes étapes sont rappelées brièvement (Figure 5) :

- Un prélèvement d'eau intégratif est réalisé à l'aide d'un bidon de 1L idéalement à 5-20 cm de profondeur en cumulant différents endroits de la station de façon couvrir la largeur de la rivière.
- L'eau est ensuite filtrée sur des capsules « Sterivex » de porosité $0.45\mu\text{m}$ 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 est expulsée du « Sterivex » en faisant une chasse d'air avec la seringue, puis 2mL de solution de préservation MC1 sont ajoutés à l'échantillon filtré pour le préserver. Les échantillons sont ensuite 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 6. 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).

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.

Le logiciel QX Manager™ (Bio-rad) a été utilisé pour analyser les données de ddPCR. Grâce aux différents témoins négatifs (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 chaque station, la stabilité du signal ADN détecté par filtration d'eau a été évaluée en comparant les résultats des 3 réplicas (capsules Sterivex), puis les résultats d'une même station ont été moyennés. Les résultats présentés sont corrigés afin de présenter un nombre de copies de gène de l'espèce ciblée par μL d'extrait ADN 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 FDAAPMA62 lors de la campagne de terrain des 18 et 19 Août 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

Station	Cours d'eau	Localisation	Date et heure de prélèvement	Température de l'eau (°C)	Conductivité (µS/cm)	O ₂ (mg/L)	Saturation O ₂ (%)	pH	Volume filtré par échantillon (mL)	
LAQ1	La Laquette	Aire-sur-la-Lys	18/08/2025	16,7	612	8,9	91	7,9	A	1020
									B	1080
									C	1020
LAQ2	La Laquette	Witternesse	18/08/2025 10:20	16,4	607	11,4	115	7,9	A	1080
									B	1080
									C	1020
LAQ3	La Laquette	Liettres	18/08/2025 11:00	16,2	596	11,0	111	8,0	A	960
									B	960
									C	960
LAQ4	La Laquette	Enquin-les-Mines	18/08/2025 14:15	16,4	604	11,1	113	8,1	A	900
									B	840
									C	840
LYS1	La Lys	Aire-sur-la-Lys	18/08/2025 09:00	16,8	603	9,9	100	7,7	A	1080
									B	1080
									C	1080
LYS2	La Lys	Aire-sur-la-Lys	19/08/2025 09:20	16,2	586	10,4	105	8,1	A	1020
									B	1020
									C	1020
LYS3	La Lys	Mametz	19/08/2025 10:15	15,3	586	10,6	106	8,2	A	1020
									B	1080
									C	1020
LYS4	la Lys	Therouanne	19/08/2025 10:45	15,0	582	10,9	108	8,1	A	960
									B	1140
									C	1020
LYS5	la Lys	Therouanne	19/08/2025	15,8	574	10,8	108	8,2	A	960
									B	1020
									C	1020
LYS6	La Lys	Coyecques	19/08/2025 12:10	15,3	571	11,2	111	8,2	A	1020
									B	1020
									C	960
LYS7	La Lys	Reclinghem	19/08/2025 13:20	15,2	580	11,8	118	8,1	A	960
									B	960
									C	960
LYS8	La Lys	Mencas	19/08/2025 14:10	14,9	581	12,4	123	-	A	960
									B	1020
									C	960
LYS9	La Lys	Hezecques	18/08/2025 14:45	14,4	590	10,9	107	8,0	A	1020
									B	1020
									C	1020
LYS10	La Lys	Verchin	18/08/2025 15:30	14,2	607	10,7	104	8,0	A	1020
									B	1140
									C	1020
SUR1	Le Surgeon	Enquin-les-Mines	18/08/2025 12:45	16,9	557	12,2	125	8,1	A	900
									B	900
									C	900
SUR2	Le Surgeon	Fléchin	18/08/2025 13:20	15,2	571	11,0	109	8,2	A	900
									B	960
									C	900
TRAX1	La Traxenne	Fruges	19/08/2025	15,7	584	12,1	123	8,1	A	900
									B	900
									C	900

Les volumes d'eau filtrée sont répétables entre les répliques (Table 1). Le volume total filtré par station oscille entre 1800 et 3240mL, volume jugé suffisant pour la mise en place de l'extraction de l'ADN total et l'analyse pour la recherche spécifique par dPCR, 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 pour les deux contextes d'étude. 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* d'un côté, et de *T. bryosalmonae*, *F. sultana* et *S. trutta* de l'autre, ne mettant ainsi pas en évidence de signes de contamination entre les échantillons. Des témoins positifs constitués d'extrait ADN de tissu ou de culture pour les 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.

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, et ceux pour la détection de *T. bryosalmonae*, *F. sultana* et *S. trutta* sur 6 stations sont présentés en Table 3. Ces tables indiquent également le nombre de répliques de terrain positifs pour la détection des différentes espèces. Cette métrique indique la confiance dans les résultats, plus le nombre de répliques positifs étant élevé et plus la présence de l'espèce à l'amont de la station échantillonnée est probable. Lorsqu'un seul réplique de terrain est positif, on parle d'une suspicion de détection.

3.2.2 Résultats de détection par ADNe dans l'eau : contexte écrevisses

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 répliques positifs sur le nombre de répliques testés est également indiqué.

Site	<i>A. astaci</i>		<i>A. pallipes</i>		<i>F. limosus</i>		<i>P. clarkii</i>		<i>P. leniusculus</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
LAQ1	3,53E+01	1/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3
LAQ2	5,41E+01	1/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3
LAQ3	1,01E+02	1/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3
LAQ4	4,81E+01	1/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3
LYS1	1,14E+02	1/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3
LYS2	2,66E+02	2/3	0	0/3	3,22E+01	1/3	0	0/3	0	0/3
LYS3	2,20E+02	2/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3
LYS4	3,59E+02	2/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3
LYS5	4,30E+02	3/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3
LYS6	1,43E+03	3/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3
LYS7	2,79E+02	2/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3
LYS8	3,35E+02	2/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3
LYS9	2,86E+01	1/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3
LYS10	5,86E+01	2/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3
SUR1	0	0/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3
SUR2	3,41E+01	1/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3
TRAX1	4,04E+01	1/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3

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

➤ Signal ADNe *Austropotamobius pallipes*

Le signal ADNe de l'écrevisse à pattes blanches n'a été détecté sur aucune des stations échantillonnées (Table 2, Figure 6).

➤ Signal ADNe *Aphanomyces astaci*

Le signal ADNe de l'agent responsable de la peste de l'écrevisse, *A. astaci* a été détecté sur 15 stations (Table 2, Figure 6). Le signal est non répétable sur la moitié des stations, indiquant une suspicion de présence, qui est plus forte sur les stations présentant plusieurs répliques positifs. Néanmoins, le marqueur utilisé peut également amplifier d'autres espèces d'*Aphanomyces* non pathogènes, c'est pourquoi l'interprétation de ce signal est délicate.

➤ Signaux ADNe des espèces d'écrevisse 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 échantillonnées (Table 2, Figure 6). Le signal détecté est non répétable sur la station 2 de la Lys et n'est pas retrouvé ailleurs sur le linéaire échantillonné. Cela indique donc une suspicion de présence de l'espèce qui reste à confirmer.

Les écrevisses *P. clarkii* et *P. leniusculus* n'ont pas été détectées.

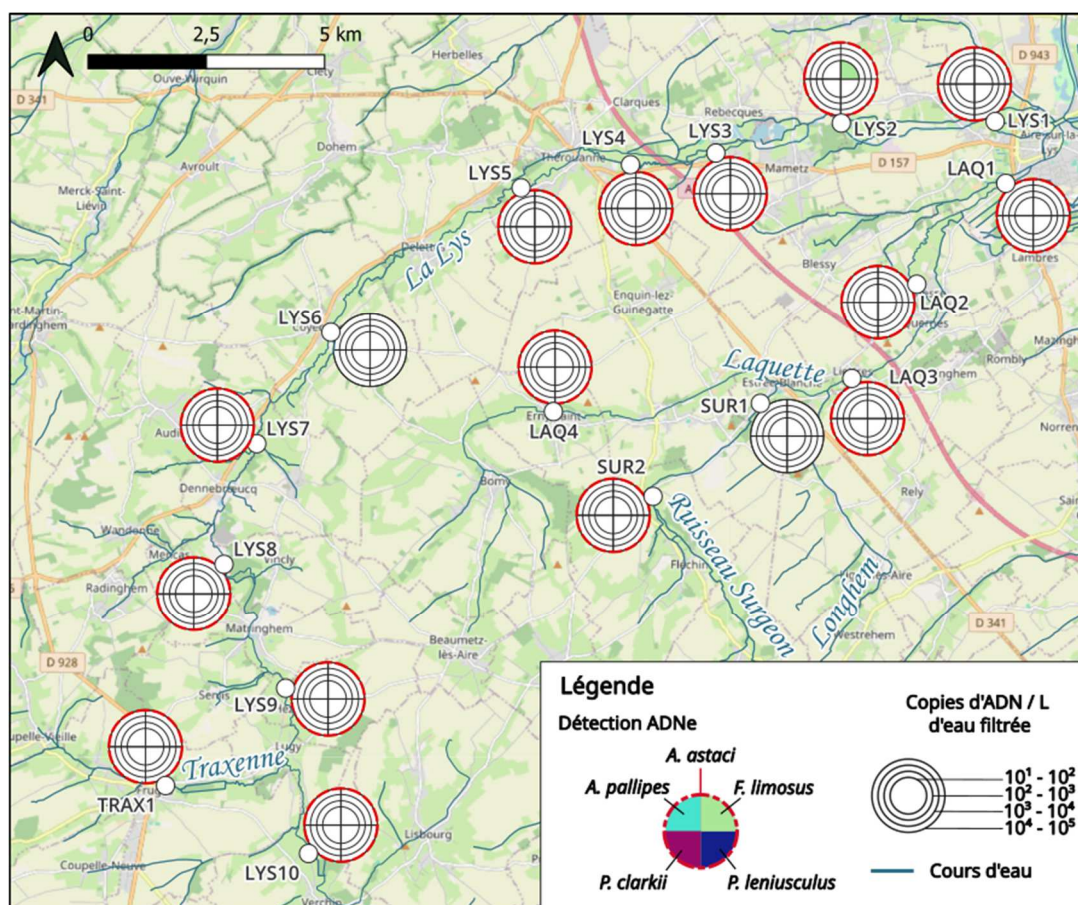


Figure 7. Détection par dddPCR des 4 espèces d'écrevisses (*Austropotamobius pallipes*, *Faxonius limosus*, *Procambarus clarkii* et *Pacifastacus leniusculus*) et de la peste (*Aphanomyces astaci*) à partir des échantillons d'eau filtrée. Fond de carte : ©OpenStreetMap

3.2.3 Résultats de détection par ADNe dans l'eau : contexte PKD

Table 3. Résultats de l'amplification ciblée de l'ADN de *T. bryosalmonae*, *F. sultana*, et *S. trutta* par ddPCR à partir des échantillons d'eau filtrée. Le nombre de répliques positifs sur le nombre de répliques testés est également indiqué.

Code site	<i>T. bryosalmonae</i> 1		<i>T. bryosalmonae</i> 2		<i>F. sultana</i>		<i>S. trutta</i>	
	Copies d'ADN*	Replicas positifs	Copies d'ADN*	Replicas positifs	Copies d'ADN*	Replicas positifs	Copies d'ADN*	Replicas positifs
LAQ2	9,43E+02	3/3	9,83E+03	3/3	1,37E+04	3/3	1,62E+03	3/3
LYS1	0	0/3	6,88E+01	2/3	1,21E+04	3/3	2,71E+02	2/3
LYS3	4,35E+02	3/3	6,19E+03	3/3	2,53E+04	3/3	1,60E+03	3/3
LYS6	3,26E+02	2/3	4,31E+03	2/3	1,36E+04	3/3	2,97E+03	3/3
LYS8	1,45E+02	3/3	3,91E+03	3/3	7,42E+03	3/3	3,52E+03	3/3
LYS10	1,83E+03	3/3	3,93E+04	3/3	9,05E+03	3/3	8,20E+03	3/3

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

➤ Signal ADNe *Salmo trutta* (témoin environnemental)

Le signal ADNe de la truite fario a bien été détecté sur l'ensemble des stations (Table 3, Figure 8). La détection de ce témoin environnemental permet d'attester de la validité des échantillons en cas de non-détection des autres espèces recherchées. Le signal détecté est un peu plus faible sur la station aval de la Lys.

➤ Signal ADNe *Fredericella sultana* (témoin environnemental)

Le signal ADNe du bryzoaire *F. sultana* a été détecté sur l'ensemble des stations échantillonnées, avec un fort signal détecté sur l'ensemble des répliques (Table 3, Figure 8). Cette détection indique la présence de colonies réparties sur tout le linéaire prospecté, et donc la présence d'une niche favorable au développement du parasite *T. bryosalmonae*.

➤ Signal ADNe *Tetracapsuloides bryosalmonae*

Le signal ADNe de *T. bryosalmonae* a été détecté sur l'ensemble des stations échantillonnées. Le signal est plus faible sur la station LYS1 pour laquelle le signal est détecté uniquement avec le marqueur 2. Ces résultats indiquent que le parasite est présent tout le long du linéaire prospecté.

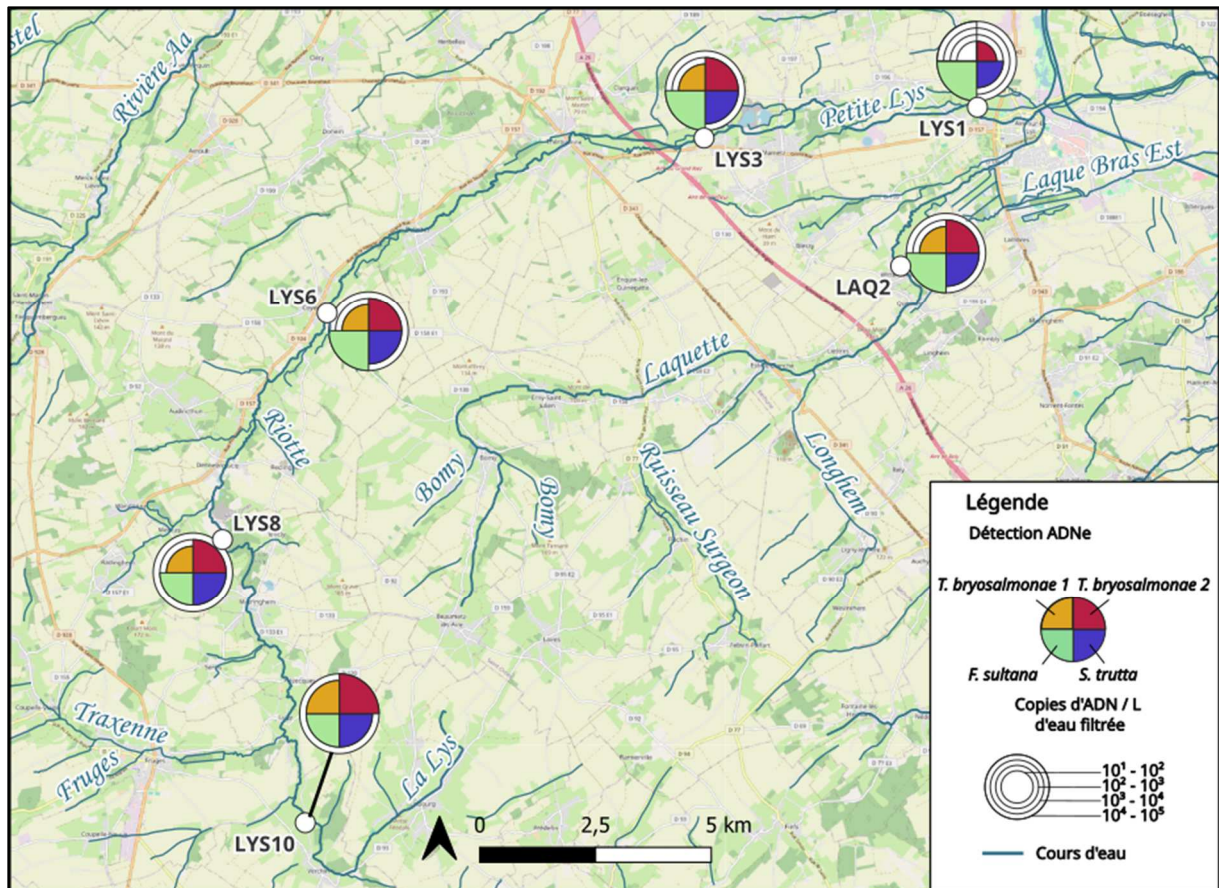


Figure 8. Détection par dddPCR de *Tetracapsuloides bryosalmonae*, *Fredericella sultana* et *Salmo trutta* à partir des échantillons d'eau filtrée. Fond de carte : ©OpenStreetMap

4 Inventaires piscicoles par metabarcoding

Les échantillons prélevés pour la recherche spécifique en dPCR ont également été analysés en metabarcoding afin d'obtenir un inventaire des taxons piscicoles détectés sur chaque station. Un échantillon représente le pool des 3 répliques de terrain extraits par station.

En moyenne, 70200 séquences attribuées aux poissons ont été lues par station (49000-119000). Au total, 24 taxons ont été détectés sur l'ensemble des stations prospectées, avec 3 à 19 taxons par station (Figure 9).

Pour certains taxons, 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 soient effectivement attribuées (Table 5).

Table 4. 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
Anguilliformes	Anguillidae	<i>Anguilla</i>	<i>Anguilla</i>	<i>Anguilla anguilla</i>	Anguille	ANG
Cypriniformes	Leuciscidae	<i>Abramis</i>	<i>Abramis brama</i>	<i>Abramis brama</i>	Brème commune	BRE
Esociformes	Esocidae	<i>Esox</i>	<i>Esox lucius</i>	<i>Esox lucius</i>	Brochet commun	BRO
Cypriniformes	Cyprinidae	-	Cyprinidae	Cyprinidae	Carassins ou moins probablement carpes	Carassius_sp
Perciformes	Cottidae	<i>Cottus</i>	<i>Cottus perifretum</i>	<i>Cottus perifretum</i>	Chabot	CHA
Cypriniformes	Leuciscidae	-	Leuciscinae (2)	<i>Squalius cephalus</i> ou <i>Rutilus rutilus</i> ou <i>Leuciscus leuciscus</i>	Chevesne ou moins probablement gardon ou vandoise	CHE/GAR/VAN
Cypriniformes	-	-	Cyprinoidei	Cyprinoidei	assignation au sous-ordre des Cyprinoidei	Cyprinoidei
Cypriniformes	Cyprinidae	-	Cyprininae	Cyprininae	Carpe du genre Cyprinus	Cyprinus_sp
Perciformes	Gasterosteidae	<i>Gasterosteus</i>	<i>Gasterosteus sp</i>	<i>Gasterosteus sp</i>	Epinoche	EPI
Perciformes	Gasterosteidae	<i>Pungitius</i>	<i>Pungitius pungitius</i>	<i>Pungitius pungitius</i>	Epinochette	EPT
Cypriniformes	Leuciscidae	-	Leuciscinae (1)	<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	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
Gobiiformes	Gobiidae	<i>Neogobius</i>	<i>Neogobius melanostomus</i>	<i>Neogobius melanostomus</i>	Gobie à tâches noires	GTN
Cypriniformes	Nemacheilidae	<i>Barbatula</i>	<i>Barbatula</i>	<i>Barbatula barbatula</i>	Loche franche	LOF
Salmoniformes	Salmonidae	<i>Thymallus</i>	<i>Thymallus thymallus</i>	<i>Thymallus thymallus</i>	Ombre commun	OBR
Perciformes	Percidae	<i>Perca</i>	<i>Perca fluviatilis</i>	<i>Perca fluviatilis</i>	Perche	PER
Cypriniformes	Gobionidae	<i>Pseudorasbora</i>	<i>Pseudorasbora</i>	<i>Pseudorasbora parva</i>	Goujon asiatique	PSR
Cypriniformes	Leuciscidae	<i>Scardinius</i>	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	Rotengle	ROT
Perciformes	Percidae	-	Percidae	Percidae	Sandre ou moins probablement perche*	SAN/PER
Salmoniformes	Salmonidae	-	Salmonidae	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Truite arc-en-ciel	TAC
Salmoniformes	Salmonidae	<i>Salmo</i>	<i>Salmo</i>	<i>Salmo trutta</i>	Truite fario	TRF
Cypriniformes	Leuciscidae	<i>Phoxinus</i>	<i>Phoxinus phoxinus</i>	<i>Phoxinus phoxinus</i>	Vairon	VAI
Cypriniformes	Leuciscidae	<i>Leuciscus</i>	<i>Leuciscus leuciscus</i>	<i>Leuciscus leuciscus</i>	Vandoise	VAN

*confiance d'assignation faible mais espèce la plus proche et présente dans la zone d'étude

Parmi les espèces détectées, 6 présentent un statut de protection particulier, à savoir l'anguille (*Anguilla anguilla*), le brochet (*Esox lucius*), le chabot (*Cottus sp*), l'ombre commun (*Thymallus thymallus*), la truite fario (*Salmo trutta*) et la vandoise (*Leuciscus leuciscus*, Table 5). Le goujon asiatique *Pseudorasbora parva*, détecté sur 3 stations, est listé parmi les espèces exotiques envahissantes (Table 5).

Table 5. Espèces détectées au sein des échantillons prélevés sur le bassin de la Lys présentant un statut de protection particulier.

Code espèce	Nom vernaculaire	Nom latin	Statut de conservation				Statut de protection							Espèces exotiques
			LR Hauts-de-France	LR France	LR UE	LR Monde	Directive Habitats Faune Flore	Convention de Washington (CITES)	Arrêté du 8-12-1988	Convention de Berne	Convention de Barcelone	Convention OSPAR	Arrêté du 14-2-2018	
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							
OBR	Ombre commun	<i>Thymallus thymallus</i>	NA	VU	LC	LC	V		X	III				
PSR	Pseudorasbora	<i>Pseudorasbora parva</i>	NA	NA	NA	LC								X
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 la truite fario, avec respectivement 51 et 13% du total des séquences lues qui leur sont attribuées (Figure 9, Figure 10). La Figure 9 permet de représenter visuellement les taxons retrouvés le plus abondamment dans les prélèvements. La Figure 10 permet de visualiser l'ensemble des taxons détectés, y compris ceux avec une très faible abondance de séquences.

Le chabot est détecté sur toutes les stations, la truite et l'épinoche sur 15 stations. La détection de la truite est d'ailleurs conforme à ce qui a été détecté par les analyses ddPCR sur 6 stations (voir 3.2.3).

L'ombre commun est détecté sur la Lys à partir de la station LYS6, et sur la Laquette à partir de la station LAQ3. La truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss* est détectée plus aléatoirement sur une majeure partie du linéaire échantillonné (Figure 10). La détection de ces espèces est toujours à considérer avec prudence car les signaux peuvent provenir d'étangs ou de piscicultures élevant des individus sans que ceux-ci ne soient présents dans les cours d'eau. Néanmoins, la truite arc-en-ciel a déjà été contactée en pêche sur le secteur, et l'ombre commun a fait l'objet d'une implantation sur certaines rivières du département, ce qui suggère que les signaux perçus proviennent bien des cours d'eau étudiés.

L'anguille est détectée sur la Lys à partir de la station LYS8, et faiblement sur la station aval de la Laquette (LAQ1).

On observe un gradient aval/amont dans le nombre de taxons détectés (Figure 9). La station LYS1 présente la plus forte diversité de taxons détectés (19), LAQ1 (16) et LYS2 (14) ceci étant probablement dû à leur positionnement à l'aval des linéaires étudiés.

- Inventaires piscicoles par metabarcoding -

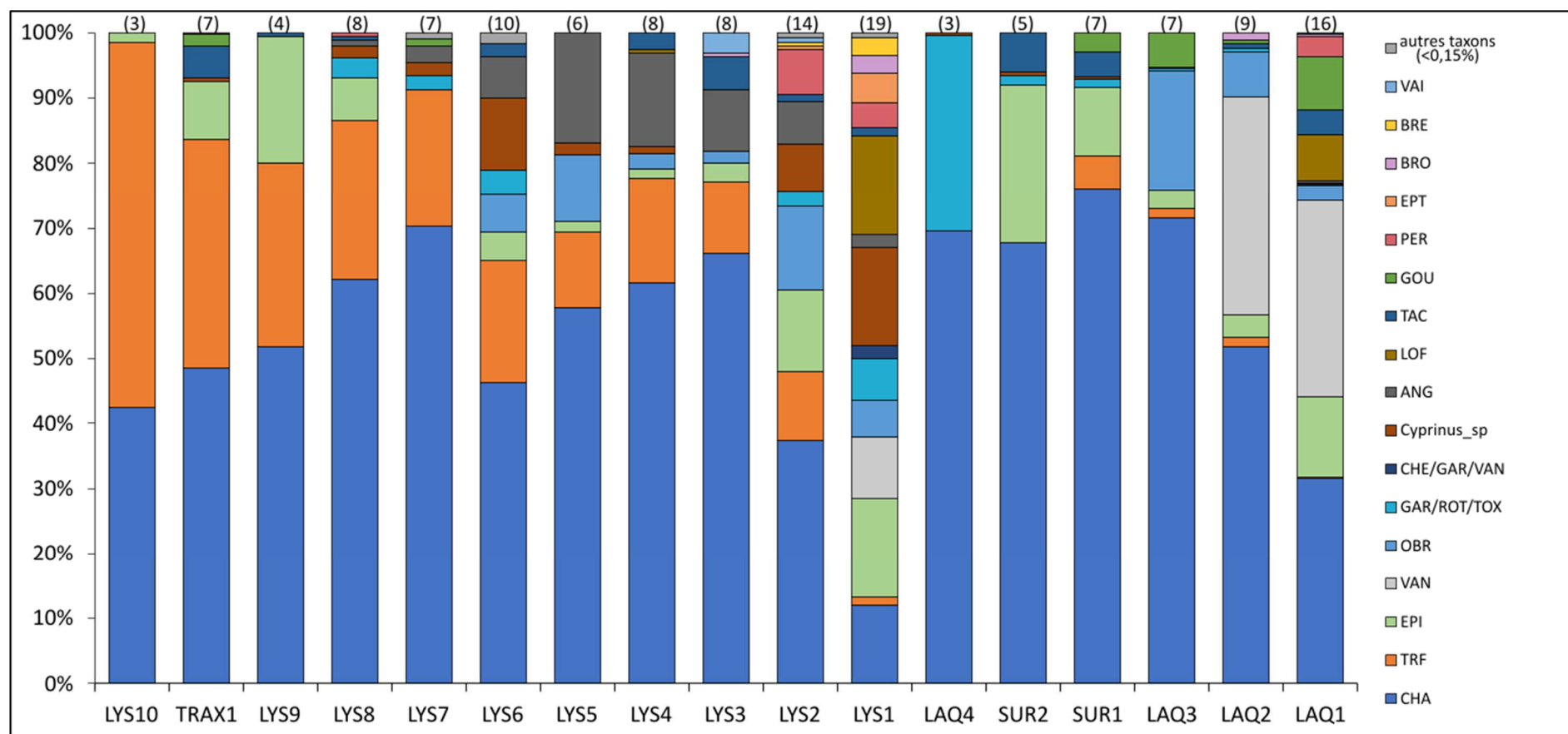


Figure 9. Représentation en histogrammes empilés du pourcentage de séquences attribuées aux différents taxons pour chaque station échantillonnée. La correspondance des codes espèces est disponible en Table 5. Les taxons sont ordonnés en légende du moins abondant au plus abondant. Les stations sont présentées de gauche à droite en allant de l'amont vers l'aval. Le nombre total de taxons détectés est indiqué entre parenthèses.

- Inventaires piscicoles par metabarcoding -

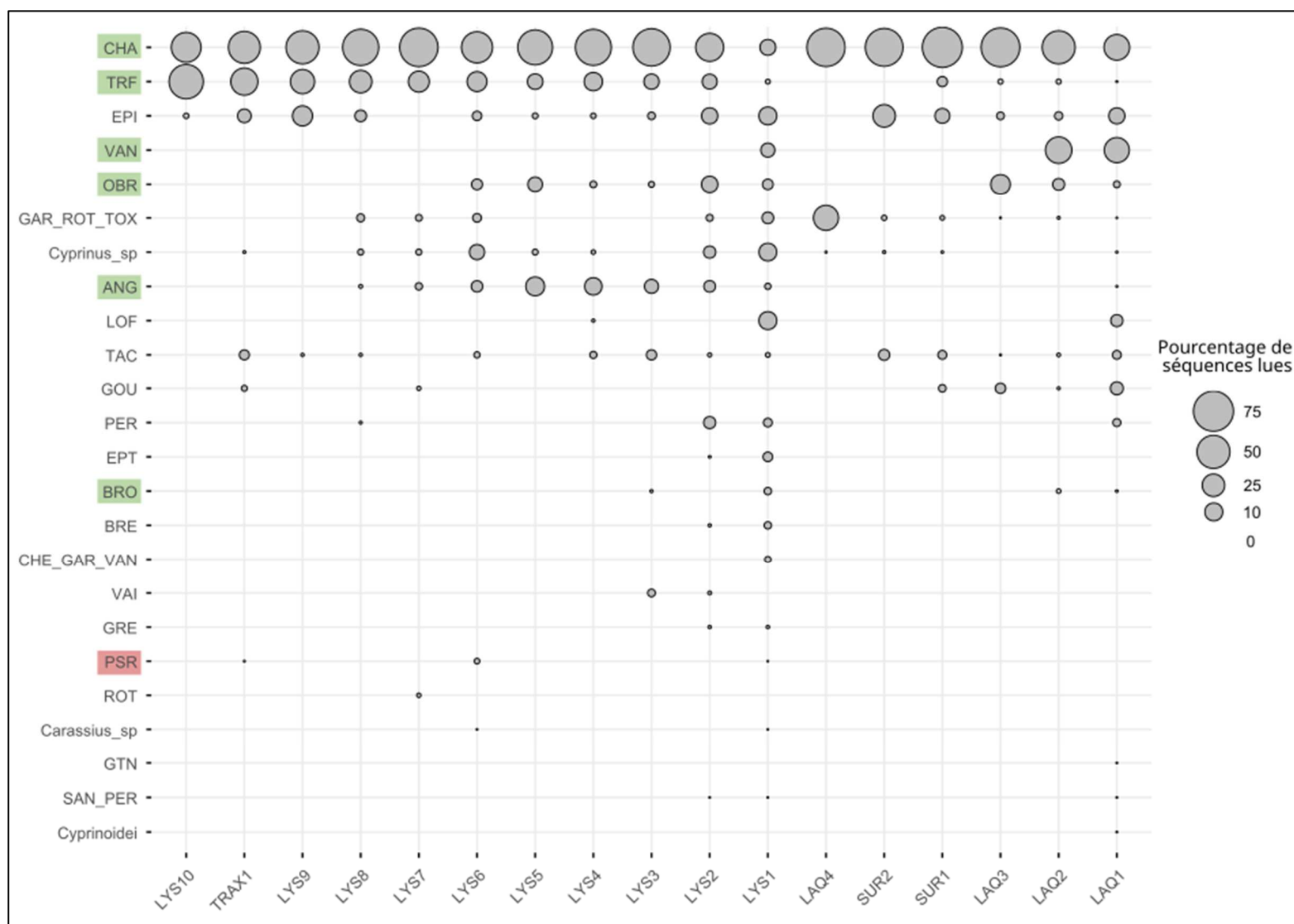


Figure 10. Taxons détectés sur le bassin versant de la Lys et pourcentage de séquences attribué pour chacune des stations. Les espèces protégées sont indiquées en vert, et les espèces classées exotiques envahissantes en rouge.

Afin de pouvoir comparer les résultats obtenus en metabarcoding avec les données de pêche, la FDAAPPMA62 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 2012 3,7km en amont de la station LYS10 et sur la station LYS9, en 2013 300m à l'amont de la station TRAX1 et sur la station LYS7. Une station située 2,5km en aval de la station LYS6 et 2,5km en amont de la station LYS5 a quant à elle été suivie entre 2010 et 2024 (réseau de suivi OFB) avec au total 8 opérations de pêche électrique. La détection cumulée des espèces lors de ces opérations et la comparaison aux données ADNe 2025 sont présentées en Table 6.

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 13 des stations prospectées, et elle a également été retrouvée en pêche entre les stations LYS6 et LYS5, ce qui confirme la présence de spécimens sur le linéaire. En revanche, l'ombre commun n'a pas été échantillonné sur la station située entre LYS6 et LYS5 alors que son signal ADNe y est retrouvé.

Table 6. Comparaison des résultats ADNe avec les données historiques de pêche. Les stations sont ordonnées de l'amont vers l'aval.

Code taxon	LYS10		TRAX1		LYS9		LYS7		LYS6	Point intermédiaire (2,5km) pêche 2010-2024	LYS5
	ADNe 2025	pêche 2012	ADNe 2025	pêche 2013	ADNe 2025	pêche 2012	ADNe 2025	pêche 2013	ADNe 2025		ADNe 2025
ANG				X		X	X	X	X	X	X
Carassius_sp						X			X		
CHA	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Cyprinus_sp			X				X		X		X
EPI	X		X	X	X	X			X	X	X
GAR/ROT/TOX							X		X	GAR	
GOU			X				X				
LPP						X				X	
LPF										X	
LPX										X	
OBR									X		X
PSR			X						X		
ROT							X				
TAC			X		X				X	X	
TRF	X	X	X	X	X		X	X	X	X	X

Les divergences observées entre les détections par ADNe et en pêche peuvent s'expliquer par la distance le long du linéaire et également dans les années d'échantillonnage. Pour ce qui est des lamproies (LPP, LPF et LPX), le marqueur utilisé en metabarcoding ne permet vraisemblablement pas une bonne détection de ces espèces, éloignées phylogénétiquement des autres poissons. On observe tout de même une bonne convergence entre les données de pêche et les données ADNe, surtout pour les stations aval LYS6 et LYS5 qui sont les plus diversifiées.

Sur la Traxenne, le goujon, la truite arc-en-ciel et le goujon asiatique ont été détectés en ADNe mais pas en pêche en 2013. Ces espèces ont pu arriver sur le cours d'eau entre-temps, ce qui pourrait notamment illustrer une avancée du front de colonisation du goujon asiatique, nouvellement détecté également sur la station LYS6 (espèce exotique envahissante, Table 5).

L'anguille avait été pêchée en 2013 sur la Traxenne et en 2012 sur LYS9 et n'est pas détectée en ADNe, ce taxon n'apparaissant en ADNe 2025 qu'à partir de la station LYS8. Un seul individu avait été retrouvé en pêche sur la Traxenne, et 7 sur LYS9, ce qui pourrait correspondre à une très faible densité de l'espèce sur le secteur qui induit des signaux émis sous la limite de détection de la méthode ADNe employée, soit son absence en 2025.

5 Conclusions et perspectives

Détection des espèces astacicoles

La recherche des espèces d'écrevisses sur le bassin de la Lys 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, un très faible signal non répétable pourrait indiquer la présence d'écrevisses américaines à l'amont de la station LYS2. Une investigation plus fine sur ce secteur permettrait de trancher quant à la véritable présence de cette espèce, non détectée sur la station LYS1 un peu plus de 3km en aval.

Le signal ADNe de la peste de l'écrevisse a été détecté sur la quasi-totalité des stations échantillonnées (15/17). 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).

L'absence de détection de l'écrevisse à pattes blanches pourrait s'expliquer par des milieux échantillonnés non favorables à sa présence. En effet, les populations d'écrevisses à pattes blanches sont souvent retrouvées sur de petits affluents en tête de bassins versants, où les débits sont relativement faibles, ce qui peut expliquer l'absence de détection du signal ADNe à l'aval, que l'on s'attend à retrouver au maximum à 2km en aval des populations (Baudry et al., 2023; Van Driessche et al., 2023; Wacker et al., 2019).

Détection de *F. sultana* et *T. bryosalmonae*

Contrairement à la recherche spécifique des écrevisses, les signaux détectés pour *T. bryosalmonae*, *F. sultana* et *S. trutta* dans le contexte PKD sur 6 des 17 stations échantillonnées dans l'étude sont très répétables et retrouvés tout le long du linéaire étudié. Les signaux ADNe détectés pour le bryozoaire sont forts, indiquant la présence de colonies à l'amont de toutes les stations analysées, et donc d'une niche favorable au développement du myxozoaire *T. bryosalmonae*. Ce dernier est également détecté sur toutes les stations, de façon un peu plus faible sur LYS1 (un seul marqueur), potentiellement à cause de la dilution du signal. Il existe donc un risque avéré de développement de la PKD pour les populations de truite fario si les températures moyennes des cours d'eau échantillonnés dépassent les 15°C pendant plusieurs jours consécutifs. Une seconde phase d'étude pourra être menée par la FDAAPPMA62 afin de déterminer la prévalence d'infection chez les truitelles par la détection d'ADN du parasite dans les urines. La PKD pourrait également se développer chez la truite arc-en-ciel et l'ombre commun, espèces détectées sur le secteur étudié par l'inventaire metabarcoding, bien que ce dernier soit potentiellement moins sensible à l'infection (Ros et al., 2022).

Metabarcoding poissons

L'analyse en metabarcoding a détecté un total de 24 taxons sur les 17 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. Les stations prélevées sur l'aval du réseau hydrographique étudié présentent une diversité plus élevée que les stations amont. La comparaison avec les taxons retrouvés lors des opérations de pêche électrique illustre la complémentarité des deux méthodes, même si la distance temporelle entre les prélèvements limite les conclusions que l'on peut en tirer. L'anguille n'est pas détectée par ADNe en 2025 sur les stations amont alors qu'elle avait été détectée en pêche, et il semble à contrario que le goujon asiatique et l'ombre commun soient apparus récemment dans le système étudié car ils n'avaient pas été retrouvés lors des opérations de pêche.

6 Bibliographie

Alonso, F., Temiño, C., & Diéguez-Urbeondo, 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>

Baudry, T., Laffitte, M., Noizat, C., Delaunay, C., Ricou, G., Vasselon, V., & Grandjean, F. (2023). Influence of distance from source population and seasonality in eDNA detection of white-clawed crayfish, through qPCR and ddPCR assays. *Environmental DNA*, edn3.435. <https://doi.org/10.1002/edn3.435>

Bruneaux, M., Visse, M., Gross, R., Pukk, L., Saks, L., & Vasemägi, A. (2017). Parasite infection and decreased thermal tolerance : Impact of proliferative kidney disease on a wild salmonid fish in the context of climate change. *Functional Ecology*, 31(1), Article 1. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12701>

Burkhardt-Holm, P., & Scheurer, K. (2007). Application of the weight-of-evidence approach to assess the decline of brown trout (*Salmo trutta*) in Swiss rivers. *Aquatic Sciences*, 69(1), Article 1. <https://doi.org/10.1007/s00027-006-0841-6>

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>

Carraro, L., Hartikainen, H., Jokela, J., Bertuzzo, E., & Rinaldo, A. (2018). Estimating species distribution and abundance in river networks using environmental DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 201813843. <https://doi.org/10.1073/pnas.1813843115>

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>

Duval, E. (2022). *Detection, distribution, and impacts of the emerging parasite Tetracapsuloides bryosalmonae on wild populations of the brown trout Salmo trutta* [Thèse de doctorat, 239p]. Université Toulouse III Paul Sabatier.

Feist, S. W., & Longshaw, M. (2006). Phylum Myxozoa. In P. T. K. Woo, *Fish diseases and disorders* (CAB International, p. 230-296).

Fontes, I., Hartikainen, H., Holland, J., Secombes, C., & Okamura, B. (2017). *Tetracapsuloides bryosalmonae* abundance in river water. *Diseases of Aquatic Organisms*, 124(2), Article 2. <https://doi.org/10.3354/dao03116>

Foott, J. S., & Hedrick, R. P. (1987). Seasonal occurrence of the infectious stage of proliferative kidney disease (PKD) and resistance of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, to reinfection. *Journal of Fish Biology*, 30(4), Article 4. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1987.tb05771.x>

Füreder, L., Gheradi, 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>

Gay, M., Okamura, B., & de Kinkelin, P. (2001). Evidence that infectious stages of *Tetracapsula bryosalmonae* for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* are present throughout the year. *Diseases of Aquatic Organisms*, 46, 31-40. <https://doi.org/10.3354/dao046031>

Hartikainen, H., Fontes, I., & Okamura, B. (2013). Parasitism and phenotypic change in colonial hosts. *Parasitology*, 140(11), Article 11. <https://doi.org/10.1017/S0031182013000899>

Hartikainen, H., Johnes, P., Moncrieff, C., & Okamura, B. (2009). Bryozoan populations reflect nutrient enrichment and productivity gradients in rivers. *Freshwater Biology*, 54(11), Article 11. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2009.02262.x>

Hartikainen, H., & Okamura, B. (2015). Ecology and Evolution of Malacosporean-Bryozoan Interactions. In B. Okamura, A. Gruhl, & J. L. Bartholomew, *Myxozoan Evolution, Ecology and Development* (Springer International Publishing, p. 201-216).

Hedrick, R. P., MacConnell, E., & de Kinkelin, P. (1993). Proliferative kidney disease of salmonid fish. *Annual Review of Fish Diseases*, 3, 277-290. [https://doi.org/10.1016/0959-8030\(93\)90039-E](https://doi.org/10.1016/0959-8030(93)90039-E)

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.

Okamura, B., Hartikainen, H., Schmidt-Posthaus, H., & Wahli, T. (2011). Life cycle complexity, environmental change and the emerging status of salmonid proliferative kidney disease. *Freshwater Biology*, 56(4), Article 4. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2010.02465.x>

- 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>
- Ros, A., Schmidt-Posthaus, H., & Brinker, A. (2022). Mitigating human impacts including climate change on proliferative kidney disease in salmonids of running waters. *Journal of Fish Diseases*, 45(4), Article 4. <https://doi.org/10.1111/jfd.13585>
- 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>
- Sudhagar, A., Kumar, G., & El-Matbouli, M. (2020). The Malacosporean Myxozoan Parasite *Tetracapsuloides bryosalmonae* : A Threat to Wild Salmonids. *Pathogens*, 9(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/pathogens9010016>
- 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>
- Tops, S., & Okamura, B. (2005). Malacosporean parasites (Myxozoa, Malacosporea) of freshwater bryozoans (Bryozoa, Phylactolaemata) : A review. *Denisia* 16, *Zugleich Kataloge Der OÖ. Landesmuseen Neue Serie*, 28, Article 28.
- Van Driessche, C., Everts, T., Neyrinck, S., & Brys, R. (2023). Experimental assessment of downstream environmental DNA patterns under variable fish biomass and river discharge rates. *Environmental DNA*, 5(1), 102-116. <https://doi.org/10.1002/edn3.361>
- 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>
- Wacker, S., Fossøy, F., Larsen, B. M., Brandsegg, H., Sivertsgård, R., & Karlsson, S. (2019). Downstream transport and seasonal variation in freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera*) eDNA concentration. *Environmental DNA*, 1(1), 64-73. <https://doi.org/10.1002/edn3.10>
- Wahli, T., Bernet, D., Steiner, P. A., & Schmidt-Posthaus, H. (2007). Geographic distribution of *Tetracapsuloides bryosalmonae* infected fish in Swiss rivers : An update. *Aquatic Sciences*, 69(1), Article 1. <https://doi.org/10.1007/s00027-006-0843-4>
- WOAH. (2019). INFECTION WITH *APHANOMYCES ASTACI* (CRAYFISH PLAGUE). In *Manual of diagnostic tests for aquatic animals*.

7 Fiches terrain

Fiche station LAQ1			
Désignation station			
Cours d'eau	La Laquette	Commune	Aire-sur-la-Lys / 30m aval pont rue Pierre Fra
Date et heure prélèvement	18/08/2025 09:45	Météo	couvert
Structure	FD62		
Description du point de prélèvement			
Facès d'écoulement	lotique	Largeur mouillée (m)	2,1
Vitesse estimée (cm/s)	25-75	Hauteur d'eau (cm)	45
Limpidité	moyenne	Coloration	légèrement colorée
Colmatage	fort	Ombrage	ouvert
Volume total filtré (mL)	3120	Nombre d'échantillons	3
Mesures physico-chimiques			
Température eau (°C)	16,7	Conductivité (µS)	612
Concentration O ₂ (mg/L)	8,9	Saturation O ₂ (%)	91
pH	7,9		
Remarques			
-			



Fiche station LAQ2

Désignation station

Cours d'eau	La Laquette	Commune	Witternesse / 10m aval pont rue du nouveau pont
Date et heure prélèvement	18/08/2025 10:20	Météo	couvert
Structure	FD62		

Description du point de prélèvement

Faciès d'écoulement	lotique	Largeur mouillée (m)	4,8
Vitesse estimée (cm/s)	25-75	Hauteur d'eau (cm)	15
Limpidité	moyenne	Coloration	légèrement colorée
Colmatage	fort	Ombrage	semi-ouvert
Volume total filtré (mL)	3180	Nombre d'échantillons	3

Mesures physico-chimiques

Température eau (°C)	16,4	Conductivité (µS)	607
Concentration O ₂ (mg/L)	11,4	Saturation O ₂ (%)	115
pH	7,9		
Remarques	-		



Fiche station LAQ3

Désignation station

Cours d'eau	La Laquette	Commune	Liettres
Date et heure prélèvement	18/08/2025 11:00	Météo	couvert
Structure	FD62		

Description du point de prélèvement

Faciès d'écoulement	lotique	Largeur mouillée (m)	2,8
Vitesse estimée (cm/s)	25-75	Hauteur d'eau (cm)	30
Limpidité	moyenne	Coloration	légèrement colorée
Colmatage	fort	Ombrage	fermé
Volume total filtré (mL)	2880	Nombre d'échantillons	3

Mesures physico-chimiques

Température eau (°C)	16,2	Conductivité (µS)	596
Concentration O ₂ (mg/L)	11,0	Saturation O ₂ (%)	111
pH	8,0		

Remarques

-



Fiche station LAQ4

Désignation station

Cours d'eau	La Laquette	Commune	Enquin-les-Mines / 10m aval pont RD193
Date et heure prélèvement	18/08/2025 14:15	Météo	couvert
Structure	FD62		

Description du point de prélèvement

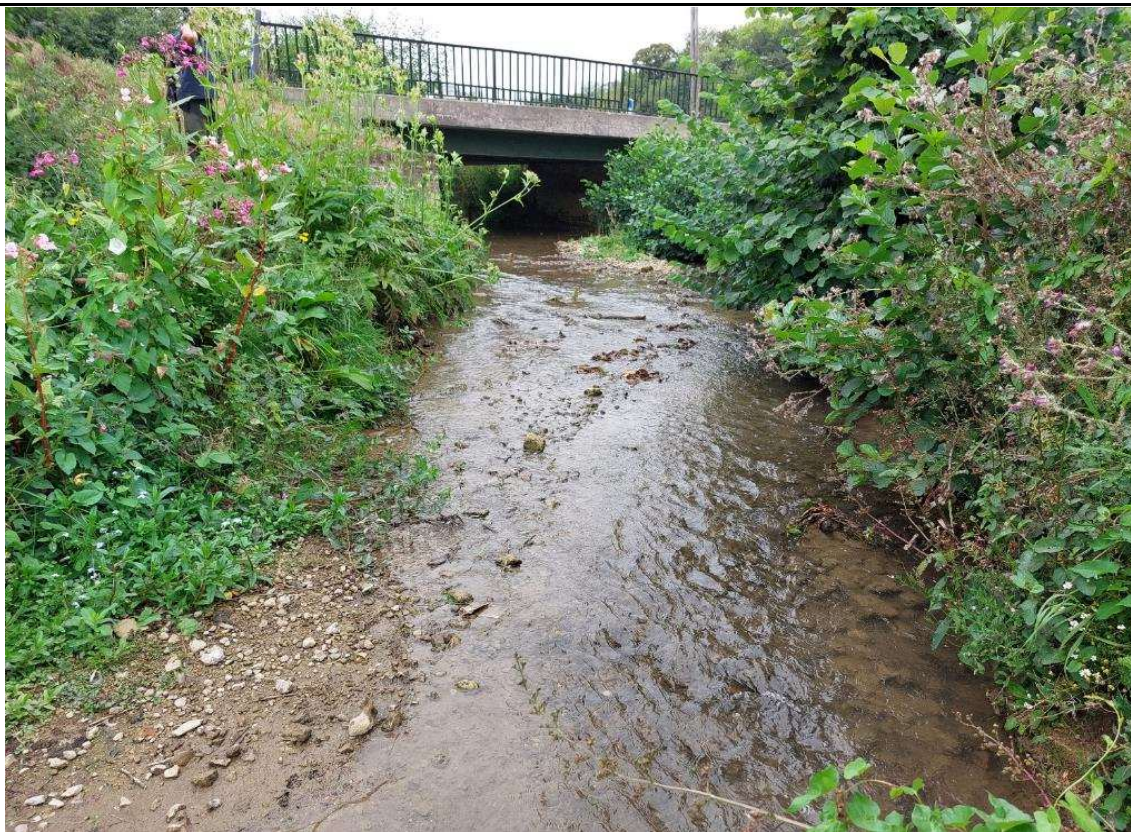
Faciès d'écoulement	lotique	Largeur mouillée (m)	2,6
Vitesse estimée (cm/s)	25-75	Hauteur d'eau (cm)	10
Limpidité	moyenne	Coloration	légèrement colorée
Colmatage	fort	Ombrage	ouvert
Volume total filtré (mL)	2580	Nombre d'échantillons	3

Mesures physico-chimiques

Température eau (°C)	16,4	Conductivité (µS)	604
Concentration O ₂ (mg/L)	11,1	Saturation O ₂ (%)	113
pH	8,1		

Remarques

-



Fiche station LYS1

Désignation station

Cours d'eau	La Lys	Commune	Aire-sur-la-Lys / amont confluence Oudel
Date et heure prélèvement	18/08/2025 09:00	Météo	couvert
Structure	FD62		

Description du point de prélèvement

Faciès d'écoulement	lentic	Largeur mouillée (m)	8,0
Vitesse estimée (cm/s)	<5	Hauteur d'eau (cm)	80
Limpidité	moyenne	Coloration	légèrement colorée
Colmatage	fort	Ombrage	ouvert
Volume total filtré (mL)	3240	Nombre d'échantillons	3

Mesures physico-chimiques

Température eau (°C)	16,8	Conductivité (µS)	603
Concentration O₂ (mg/L)	9,9	Saturation O₂ (%)	100
pH	7,7		

Remarques

-



**FISH
PASS**



SCIMABIO *interface*
science-management interface for biodiversity conservation

Fiche station LYS2

Désignation station

Cours d'eau	La Lys	Commune	Aire-sur-la-Lys / aval passerelle engin
Date et heure prélèvement	19/08/2025 09:20	Météo	soleil
Structure	FD62		

Description du point de prélèvement

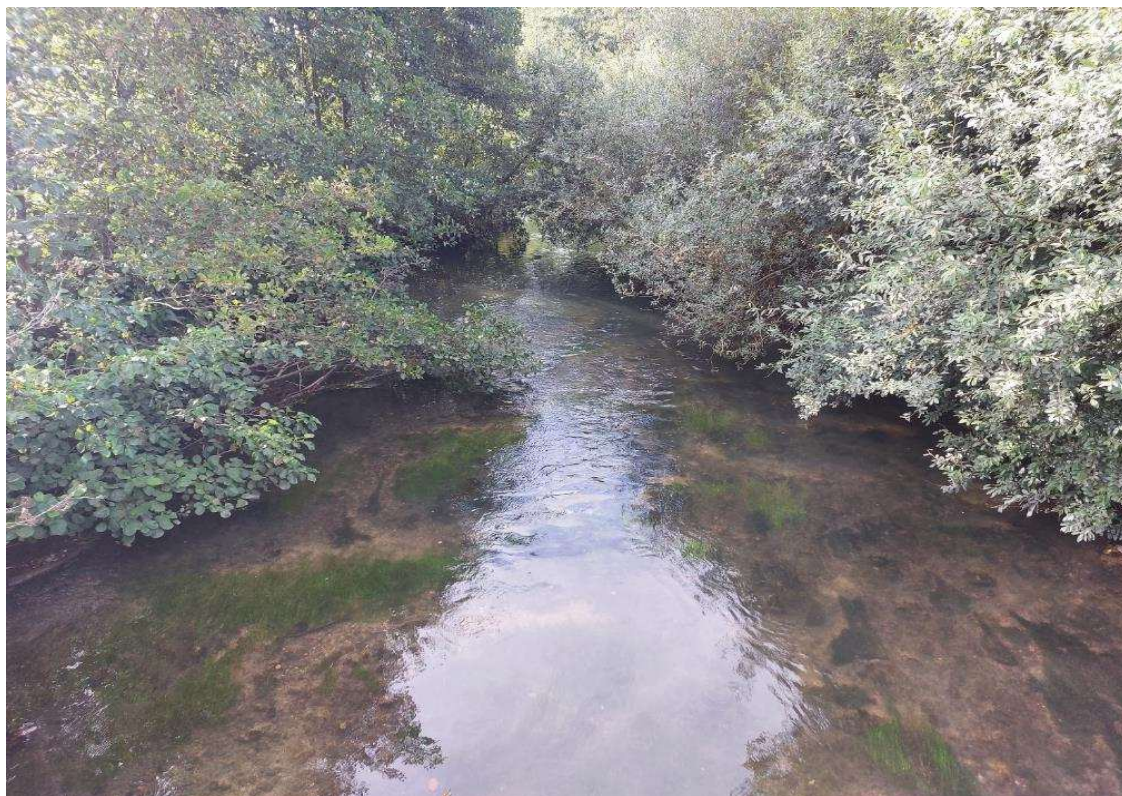
Faciès d'écoulement	lotique	Largeur mouillée (m)	10,6
Vitesse estimée (cm/s)	25-75	Hauteur d'eau (cm)	35
Limpidité	moyenne	Coloration	légèrement colorée
Colmatage	fort	Ombrage	semi-ouvert
Volume total filtré (mL)	3060	Nombre d'échantillons	3

Mesures physico-chimiques

Température eau (°C)	16,2	Conductivité (µS)	586
Concentration O ₂ (mg/L)	10,4	Saturation O ₂ (%)	105
pH	8,1		

Remarques

-



**FISH
PASS**



SCIMABIO *interface*
science-management interface for biodiversity conservation

Fiche station LYS3

Désignation station

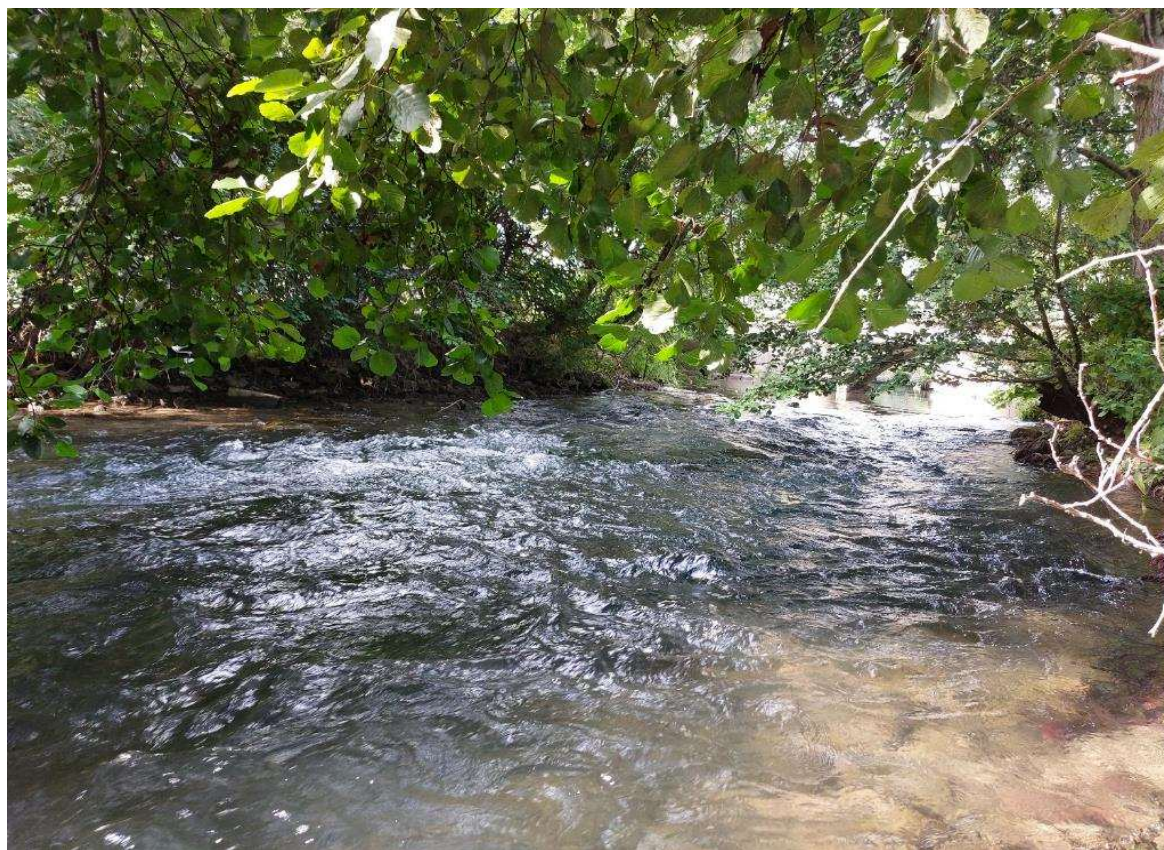
Cours d'eau	La Lys	Commune	Mametz / 10m aval du pont rue du Stade
Date et heure prélèvement	19/08/2025 10:15	Météo	soleil
Structure	FD62		

Description du point de prélèvement

Faciès d'écoulement	lotique	Largeur mouillée (m)	5,8
Vitesse estimée (cm/s)	25-75	Hauteur d'eau (cm)	20
Limpidité	moyenne	Coloration	légèrement colorée
Colmatage	fort	Ombrage	fermé
Volume total filtré (mL)	3120	Nombre d'échantillons	3

Mesures physico-chimiques

Température eau (°C)	15,3	Conductivité (µS)	586
Concentration O ₂ (mg/L)	10,6	Saturation O ₂ (%)	106
pH	8,2		
Remarques			



Fiche station LYS4

Désignation station

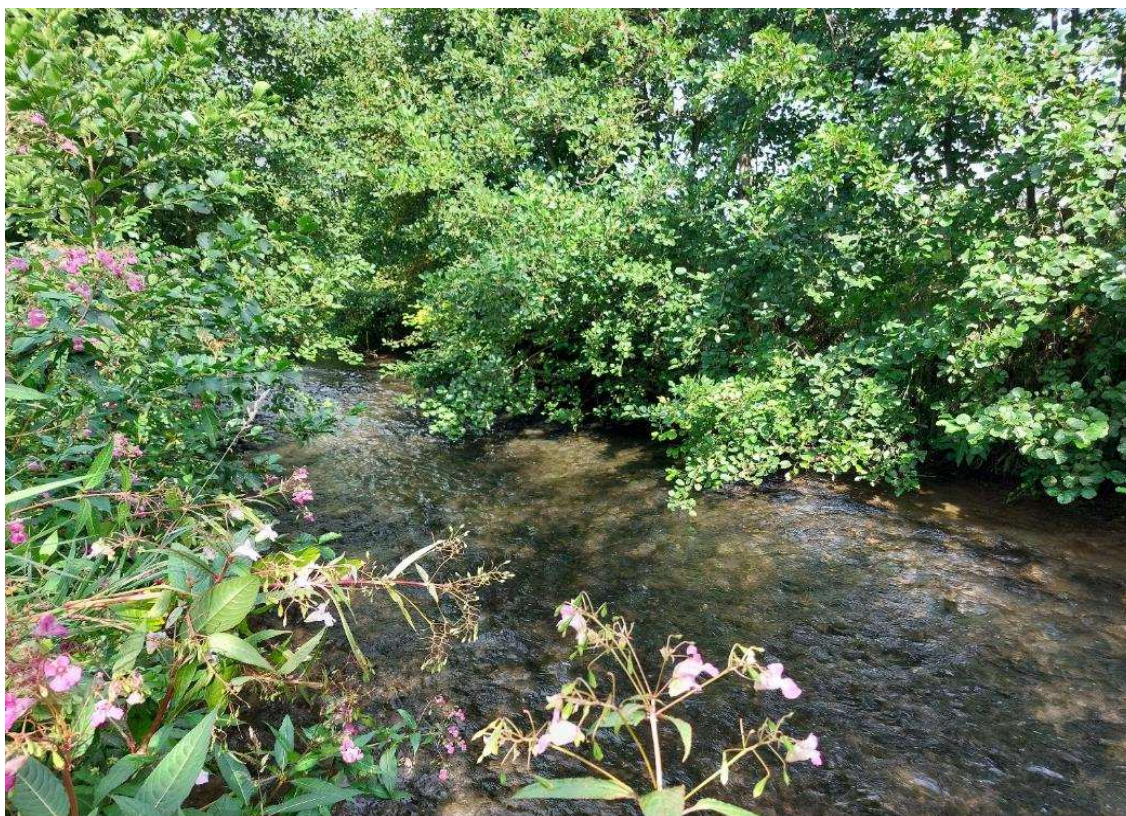
Cours d'eau	la Lys	Commune	Therouanne
Date et heure prélèvement	19/08/2025 10:45	Météo	soleil
Structure	FD62		

Description du point de prélèvement

Faciès d'écoulement	lotique	Largeur mouillée (m)	6,70
Vitesse estimée (cm/s)	25-75	Hauteur d'eau (cm)	15,0
Limpidité	moyenne	Coloration	légèrement colorée
Colmatage	faible	Ombrage	semi-ouvert
Volume total filtré (mL)	3120	Nombre d'échantillons	3

Mesures physico-chimiques

Température eau (°C)	15,00	Conductivité (µS)	582
Concentration O₂ (mg/L)	10,9	Saturation O₂ (%)	108,00
pH	8,1		
Remarques	-		



**FISH
PASS**



SCIMABIO *Interface*
science-management interface for biodiversity conservation

Fiche station LY55

Désignation station

Cours d'eau	la Lys	Commune	Therouanne
Date et heure prélèvement	19/08/2025 11:25	Météo	soleil
Structure	FD62		

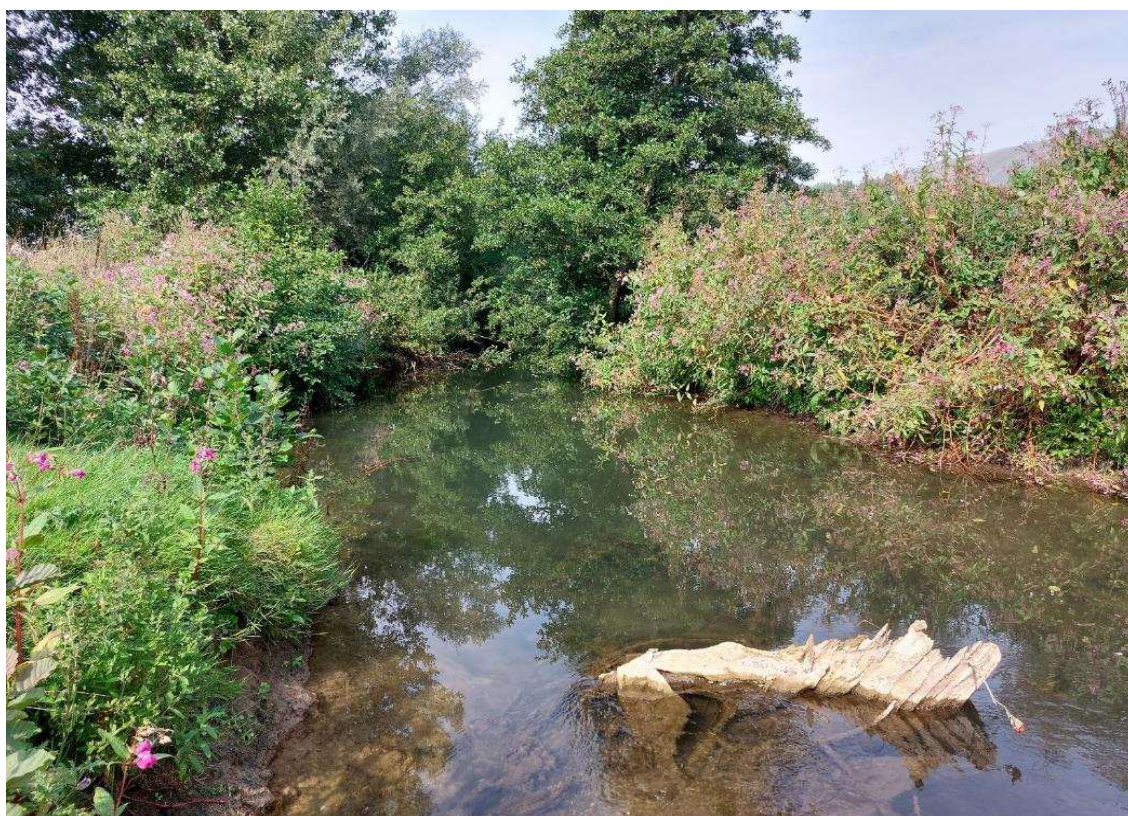
Description du point de prélèvement

Faciès d'écoulement	lenticque	Largeur mouillée (m)	5,70
Vitesse estimée (cm/s)	5-25	Hauteur d'eau (cm)	60,0
Limpidité	moyenne	Coloration	légèrement colorée
Colmatage	fort	Ombrage	semi-ouvert
Volume total filtré (mL)	3000	Nombre d'échantillons	3

Mesures physico-chimiques

Température eau (°C)	15,80	Conductivité (µS)	574
Concentration O₂ (mg/L)	10,8	Saturation O₂ (%)	108,00
pH	8,2		
Remarques			

-



**FISH
PASS**



SCIMABIO *Interface*
science-management interface for biodiversity conservation

Fiche station LYS6

Désignation station

Cours d'eau	La Lys	Commune	Coyecques / 10m aval pont de Coyecques
Date et heure prélèvement	19/08/2025 12:10	Météo	soleil
Structure	FD62		

Description du point de prélèvement

Faciès d'écoulement	lotique	Largeur mouillée (m)	13,40
Vitesse estimée (cm/s)	25-75	Hauteur d'eau (cm)	20,0
Limpidité	moyenne	Coloration	légèrement colorée
Colmatage	fort	Ombrage	fermé
Volume total filtré (mL)	2040	Nombre d'échantillons	3

Mesures physico-chimiques

Température eau (°C)	15,30	Conductivité (µS)	571
Concentration O ₂ (mg/L)	11,2	Saturation O ₂ (%)	111
pH	8,2		
Remarques			



**FISH
PASS**



SCIMABIO *Interface*
science-management interface for biodiversity conservation

Fiche station LYS7

Désignation station

Cours d'eau	La Lys	Commune	Reclinghem / 20m aval pont Reclinghem
Date et heure prélèvement	19/08/2025 13:20	Météo	soleil
Structure	FD62		

Description du point de prélèvement

Faciès d'écoulement	lotique	Largeur mouillée (m)	8,4
Vitesse estimée (cm/s)	25-75	Hauteur d'eau (cm)	50
Limpidité	moyenne	Coloration	légèrement colorée
Colmatage	fort	Ombrage	semi-ouvert
Volume total filtré (mL)	2880	Nombre d'échantillons	3

Mesures physico-chimiques

Température eau (°C)	15,2	Conductivité (µS)	580
Concentration O ₂ (mg/L)	11,8	Saturation O ₂ (%)	118
pH	8,1		
Remarques			



**FISH
PASS**



SCIMABIO

Interface

science-management interface for biodiversity conservation

Fiche station LYS8

Désignation station

Cours d'eau	La Lys	Commune	Mencas
Date et heure prélèvement	19/08/2025 14:10	Météo	soleil
Structure	FD62		

Description du point de prélèvement

Faciès d'écoulement	lotique	Largeur mouillée (m)	5,1
Vitesse estimée (cm/s)	25-75	Hauteur d'eau (cm)	40
Limpidité	moyenne	Coloration	légèrement colorée
Colmatage	fort	Ombrage	semi-ouvert
Volume total filtré (mL)	2940	Nombre d'échantillons	3

Mesures physico-chimiques

Température eau (°C)	14,9	Conductivité (µS)	581
Concentration O ₂ (mg/L)	12,4	Saturation O ₂ (%)	123
pH	-		
Remarques	-		



**FISH
PASS**



SCIMABIO *Interface*
science-management interface for biodiversity conservation

Fiche station LYS9

Désignation station

Cours d'eau	La Lys	Commune	Hezecques / 10m amont pont rue du Moulin
Date et heure prélèvement	18/08/2025 14:45	Météo	couvert
Structure	FD62		

Description du point de prélèvement

Faciès d'écoulement	lentic	Largeur mouillée (m)	6,0
Vitesse estimée (cm/s)	5-25	Hauteur d'eau (cm)	60
Limpidité	moyenne	Coloration	légèrement colorée
Colmatage	fort	Ombrage	fermé
Volume total filtré (mL)	3060	Nombre d'échantillons	3

Mesures physico-chimiques

Température eau (°C)	14,4	Conductivité (µS)	590
Concentration O ₂ (mg/L)	10,9	Saturation O ₂ (%)	107
pH	8,0		
Remarques			



**FISH
PASS**



SCIMABIO

Interface

science-management interface for biodiversity conservation

Fiche station LYS10

Désignation station

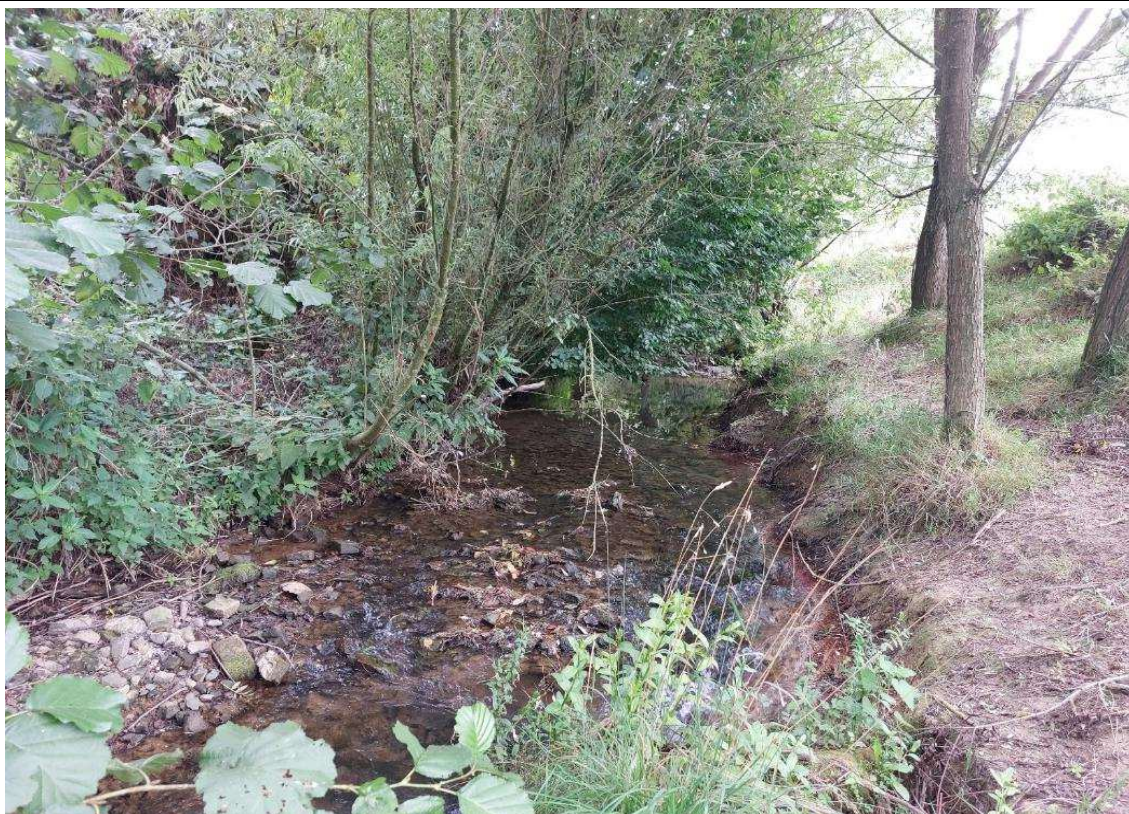
Cours d'eau	La Lys	Commune	Verchin
Date et heure prélèvement	18/08/2025 15:30	Météo	couvert
Structure	FD62		

Description du point de prélèvement

Faciès d'écoulement	lotique	Largeur mouillée (m)	2,2
Vitesse estimée (cm/s)	25-75	Hauteur d'eau (cm)	15
Limpidité	moyenne	Coloration	légèrement colorée
Colmatage	-	Ombrage	fermé
Volume total filtré (mL)	3180	Nombre d'échantillons	3

Mesures physico-chimiques

Température eau (°C)	14,2	Conductivité (µS)	607
Concentration O ₂ (mg/L)	10,7	Saturation O ₂ (%)	104
pH	8,0		
Remarques			



**FISH
PASS**



SCIMABIO

Interface

science-management interface for biodiversity conservation

Fiche station SUR1

Désignation station

Cours d'eau	Le Surgeon	Commune	Enquin-les-Mines
Date et heure prélèvement	18/08/2025 12:45	Météo	couvert
Structure	FD62		

Description du point de prélèvement

Faciès d'écoulement	lotique	Largeur mouillée (m)	1,8
Vitesse estimée (cm/s)	25-75	Hauteur d'eau (cm)	10
Limpidité	moyenne	Coloration	légèrement colorée
Colmatage	fort	Ombrage	ouvert
Volume total filtré (mL)	2700	Nombre d'échantillons	3

Mesures physico-chimiques

Température eau (°C)	16,9	Conductivité (µS)	557
Concentration O ₂ (mg/L)	12,2	Saturation O ₂ (%)	125
pH	8,1		
Remarques			



**FISH
PASS**



SCIMABIO *Interface*
science-management interface for biodiversity conservation

Fiche station SUR2

Désignation station

Cours d'eau	Le Surgeon	Commune	Fléchin / amont pont RD159
Date et heure prélèvement	18/08/2025 13:20	Météo	couvert
Structure	FD62		

Description du point de prélèvement

Faciès d'écoulement	lotique	Largeur mouillée (m)	2,2
Vitesse estimée (cm/s)	25-75	Hauteur d'eau (cm)	10
Limpidité	moyenne	Coloration	légèrement colorée
Colmatage	fort	Ombrage	fermé
Volume total filtré (mL)	2760	Nombre d'échantillons	3

Mesures physico-chimiques

Température eau (°C)	15,2	Conductivité (µS)	571
Concentration O ₂ (mg/L)	11,0	Saturation O ₂ (%)	109
pH	8,2		
Remarques			



**FISH
PASS**



SCIMABIO *Interface*
science-management interface for biodiversity conservation

Fiche station TRAX1

Désignation station

Cours d'eau	La Traxenne	Commune	Fruges
Date et heure prélèvement	19/08/2025 14:50	Météo	soleil
Structure	FD62		

Description du point de prélèvement

Faciès d'écoulement	lotique	Largeur mouillée (m)	4,2
Vitesse estimée (cm/s)	25-75	Hauteur d'eau (cm)	10
Limpidité	moyenne	Coloration	légèrement colorée
Colmatage	fort	Ombrage	fermé
Volume total filtré (mL)	1800	Nombre d'échantillons	3

Mesures physico-chimiques

Température eau (°C)	15,7	Conductivité (μS)	584
Concentration O ₂ (mg/L)	12,1	Saturation O ₂ (%)	123
pH	8,1		
Remarques			



**FISH
PASS**



SCIMABIO

Interface

science-management interface for biodiversity conservation