

# Utilisation de l'ADNe en milieu aquatique : points de vigilance et perspectives

**Didier PONT**      **SPYGEN / VigiLIFE**



## Des usages multiples en cours de test et de développement

- Conservation : espèces rares
- Espèces invasives
- Espèces / milieux où les méthodes classiques restent peu efficaces
- Modification des aires de distributions (changement climatique)
- Relations hôtes – parasites, pathogènes
- Relations prédateurs – proies
- Ecologie des communautés
- Evaluation de la qualité écologique
- ....

### Intérêt

Capacités de détection accrues  
Réduction des coûts (fonction nombre d'échantillons)  
Meilleure connaissance spatio-temporelle des distributions  
Méthode non invasive

## Des limites elles aussi en évolution

Présence / absence des espèces (limites de détection)

Pas de connaissances des stades de développement des organismes

Pas de connaissance de l'abondance absolue

Mais des résultats convergeant montrant la possibilité de décrire les abondances relatives

Des biais techniques

- Abondance initiale de l'ADN (biomasse vs nbre individus)
- Amplification, Formation de chimères ....

Base de référence encore incomplètes

Besoin de marqueurs complémentaires

**La détectabilité et l'efficacité de la méthode varie selon les groupes et les milieux**

**Evolution technologique rapide: amélioration des protocoles et des marqueurs**

# La présence d'ADN ne signifie pas toujours la présence de l'organisme

Apports d'ADNe (eaux usées, présence passée récente, proies ingérées...)

L'ADN se déplace (lac et tributaires, amont-val des cours, apports par les affluents)  
Représentativité spatio-temporelle des relevés floro-faunistiques par ADNe  
Importance des conditions hydrologiques / hydrauliques

Méthodes classiques: pas de faux positifs (espèce absente détectée)  
(sauf erreur de détermination)  
que des faux négatifs (espèces présentes non détectées)

Méthodes basées sur l'ADN: faux négatifs et faux positifs

# Qu'es-ce que l'ADN environnemental ?

ex:

Diatomées, Plancton  
Prélèvement d'eau  
Biofilm

Macro-invertébrés  
« Bulk samples »

Principalement ADN dans les organismes

Analyse de chaînes longues d'ADN  
(méthodes « classiques »  
> 500 paires de bases)

Echantillonnage de type local  
(proche des méthodes classiques)

Poissons, Amphibiens...  
Prélèvement d'eau

Uniquement  
ADN extra-organisme  
(cellulaire, libre, adsorbés??)

Analyse de chaînes courtes d'ADN  
(dégradation,  
50 à 150 paires de bases)

Intégration spatiale

**Connaissance encore limitée du cycle de l'ADN hors des organismes et des facteurs de contrôle: production, dégradation, transport...**

# Choix méthodologiques en fonction de l'objectif et des difficultés de détection / risques de contamination

## Protocoles classiques (ADN fréquent)

Marqueurs classiques: ex COI  
Bases de séquençage internationales

Protocoles de type ADN ancien  
(ADN rare, dégradé)  
Marqueurs spécifiques  
Bases de référence spécifiques)

Risques de contamination / non détection (faux positifs, faux négatifs)

Coût / Tps de mise en œuvre, Contraintes terrain / laboratoire (ex: nb. cycles PCR)



**1 salle par étape (pression différentielle, UV)**  
kits d'échantillonnage, extraction ADN très rare  
extraction ADN rare, extraction ADN tissus  
Amplification-Séquençage

# Outils de Bioindication: se limiter aux espèces les plus fréquentes (protocoles allégés)

## 1ere Option (Moyen Terme)

Utilisation des approches ADNe avec adaptation légère des bioindicateurs officiels

Même évaluation de l'état écologique à un coût moindre (« meilleure précision » ?)

Analyse large échelle couvrant les gradients environnementaux et de pression

Standardisation - Intercalibration nécessaire mais à priori ne posant pas de problème

Maintenir au début un double suivi des masses d'eau (traditionnel /ADNe)

Certification de laboratoires

## 2eme option

Adaptation des indicateurs officiels. Prise en compte des événements rares

Intégration des masses d'eau

Outils plus adaptés pour l'évaluation des impacts des pressions faibles, des réponses à court terme (impacts faibles)

Réexamen des conditions de référence, des réponses aux perturbations, Intercalibration

Suivi, définition des opérations de restauration (connectivité, analyse large échelle)

## La bioindication du futur

Indicateurs nouvelle génération (plus sensibles, détection précoce des impacts)

Utilisation plus large de la biodiversité (microorganismes)

Passage direct à l'utilisation des MOTUs  
(unité taxonomique d'observation par métabarcoding  
Redéfinition des profils écologiques (environnement, perturbations)

Réponses à de nouveaux types de pression (pesticides, perturbateurs endocriniens...)

Automatisation de la procédure sur le terrain

Recours à l'intelligence artificielle



## Conclusions

### Connaissance

- Réexamen de l'efficacité des méthodes traditionnelles dans la littérature (efficacité de l'échantillonnage, précision taxonomique...)
- Pas en soi un nouveau concept mais peut amener à une réévaluation de résultats antérieurs
- Evolution encore rapide des techniques.

### Applications

Il y a quelques années, encore très expérimental. Dès maintenant, passage aux applications

- Intérêt des gestionnaires et exploitants des milieux aquatiques
- Intérêt de l'Europe (cf. DNAqua-net, contacts avec ECOSTAT, normalisation CEN)
- Prise en compte des coûts d'adaptation à l'innovation technologique
- Modification des qualifications, des demandes de la part des gestionnaires...

### Protocoles

- Standardisation des méthodes
- Besoin de couvrir les différentes situations environnementales selon des plans d'échantillonnage multi-facteurs