



AGENCE DE L'EAU ARTOIS PICARIDE

Identification d'espèces piscicoles à partir d'échantillons d'eau par
une technique utilisant l'ADN contenu dans les échantillons

Cours d'eau d'Artois Picardie

été 2019

6 agences couvrant l'ensemble du territoire et
plus de **20 ans d'expérience** d'étude des milieux aquatiques.

Agence Sud-Ouest - Siège social

ZA du Grand Bois Est, route de Créon
33750 SAINT-GERMAIN-DU-PUCH
Tel. 05 57 24 57 21
contact@aquabio-conseil.com

Agence Centre

ZAC les Acilloux, 10 rue Hector Guimard
63800 COURNON D'AUVERGNE
Tel. 04 73 24 77 40
centre@aquabio-conseil.com

Agence Nord-Est

Ferme du Marot - D14
25870 CHÂTILLON-LE-DUC
Tel. 03 81 52 97 46
nord-est@aquabio-conseil.com

Agence Ouest

ZAC Beauséjour, rue de la gare du tram
35520 LA MÉZIÈRE
Tel. 02 99 69 73 77
ouest@aquabio-conseil.com

Agence Sud-Est

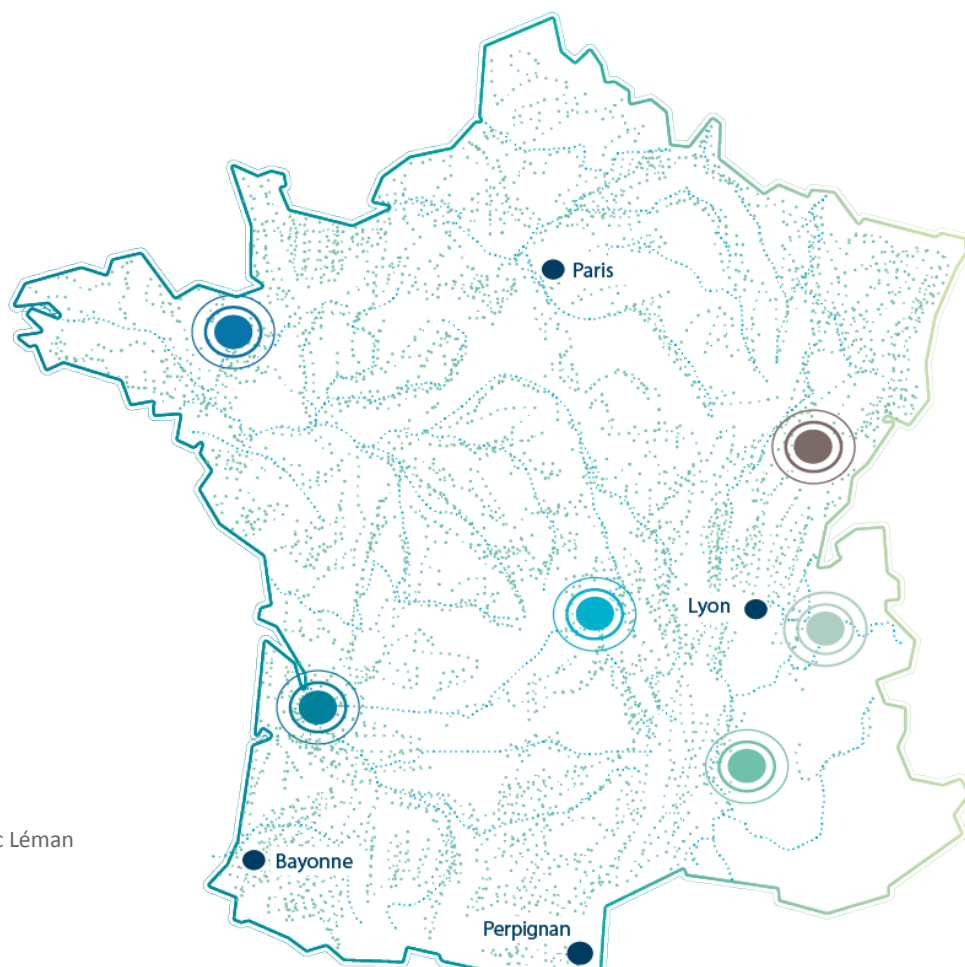
11 rue de la Charette Bleue
26110 NYONS
Tel. 04 75 26 03 32
sud-est@aquabio-conseil.com

Agence de développement

Bâtiment Andromède, 108 avenue du Lac Léman
BP70363
73372 Le Bourget du Lac Cédex
Tel. 04 79 33 64 55
contact@aquabio-conseil.com

Nos relais et partenaires locaux

Paris, Bayonne, Lyon, Perpignan



RÉDACTEUR

Nom : Pierre FURGONI
Date : 17 janvier 2020
Visa :

VÉRIFICATEUR ET APPROBATEUR

Nom : Olivier LE RUYET et Matthieu BLANCHARD
Date : 24 janvier 2020
Visa :



SOMMAIRE

SOMMAIRE.....	3
INTRODUCTION.....	4
MÉTHODOLOGIE.....	5
I. Protocole de prélèvement.....	5
II. Protocole d'analyse.....	7
DÉROULEMENT DES INVENTAIRES.....	8
I. Les stations étudiées.....	8
II. Hydrologie.....	10
III. Déroulement de la campagne terrain.....	11
IV. Problèmes rencontrés.....	11
RÉSULTATS ET INTERPRÉTATIONS.....	12
I. 01000602 - LA COLOGNE À BUIRE-COURCELLES (80).....	12
II. 01000605 - L'OMIGNON À DEVISE (80).....	13
III. 01000990 - LA NIÈVRE À BERTEAUCOURT-LES-DAMES (80).....	15
IV. 01002236 - LA COURSE A MOULIN DE FORDRES.....	16
V. 01002237 - LA HEM À TOURNEHEM.....	17
VI. 01008000 - L'HELPE MAJEURE A TAINIÈRES EN THIERACHE (nouveau et ancien site).....	19
CONCLUSION.....	21

INTRODUCTION

Dans le cadre de la mise en œuvre de la Directive Cadre Européenne sur l'eau (DCE), l'Agence de l'Eau Artois-Picardie est responsable de la production de données d'observation de l'ensemble des éléments de qualité des écosystèmes aquatiques. Elle s'appuie notamment pour cela sur d'autres services de l'État dont l'AFB (Agence Française de la Biodiversité) pour la réalisation d'inventaires piscicoles sur les cours d'eau, canaux et plans d'eau du bassin Artois-Picardie.

Dans le cadre de la mise en œuvre de ces inventaires piscicoles, de nombreuses interrogations ont été énoncées quant à l'exhaustivité de ceux-ci. Les méthodes employées et la période de réalisation des inventaires ne permettant souvent pas de révéler toutes les espèces piscicoles présentes.

L'Agence de l'Eau Artois-Picardie a donc diligenté une étude d'identification des espèces piscicoles à l'aide de l'ADN contenu dans des prélèvements d'eau réalisés sur les cours d'eau, canaux et plans d'eau de son bassin.

Les sociétés AQUABIO (prélèvement et interprétation) et SPYGEN (Analyse ADN) ont été mandatées par l'Agence de l'Eau Artois-Picardie pour réaliser cette étude.

En 2019, plusieurs cours d'eau ont fait l'objet de prélèvements. En parallèle, l'Agence Française de la Biodiversité ou ses prestataires ont réalisé des pêches électriques sur une partie des stations concernées.

Ce rapport présente un descriptif de la méthodologie employée, un déroulé de la campagne de prélèvement ainsi que les résultats obtenus et l'interprétation qui peut en être faite.

Le Tableau I donne la liste du personnel d'AQUABIO ayant participé à l'étude.

Tableau I : Personnel ayant participé à l'étude

		Prélèvements	Analyses	Rapport d'étude
Référent Etudes Poissons	LE RUYET Olivier			X (validation)
Directeur du Développement	BLANCHARD Matthieu			X (validation)
Hydroécologues	FRANÇOIS Patrick	X		
	LANOE Elven	X		
	FURGONI Pierre			X (rédaction)
SPYGEN			X	

I. PROTOCOLE DE PRÉLÈVEMENT

Pour les milieux aquatiques nous disposons de deux protocoles de prélèvement, le premier pour les petits milieux stagnants et le second pour les milieux courants. Ce dernier est adaptable aux grands milieux stagnants. Notons que pour les deux protocoles, l'ensemble du matériel mentionné est stérile (pour les parties en contact avec les échantillons) et fourni par la société SPYGEN.

I.1. Prélèvement en petit milieu aquatique stagnant

Le protocole de prélèvement en petit milieu aquatique stagnant se divise en deux étapes.

La première étape consiste à prélever 20 échantillons de 100 ml d'eau chacun tout autour de la pièce d'eau. Ces échantillons sont réalisés à l'aide d'une louche jaugée à 100 ml. Les 20 échantillons sont répartis sur l'ensemble du site étudié en veillant à échantillonner préférentiellement les habitats propices au développement des groupes ciblés. Après avoir choisi la localisation d'un échantillon, la colonne d'eau est homogénéisée à l'aide de la louche de prélèvement sans remettre en suspension la matière organique du fond. Le prélèvement est ensuite réalisé dans la partie supérieure de cette colonne d'eau. 100 ml sont récoltés et versés dans un contenant stérile. Ce contenant sert à l'ensemble des 20 échantillons.

La seconde étape débute une fois que les 20 échantillons sont récoltés. Les 2 litres ainsi obtenus sont homogénéisés et l'ensemble de l'eau est passé dans une capsule de filtration à l'aide d'une seringue stérile. Les fragments d'ADN environnemental présents dans l'eau sont retenus au niveau de la membrane de la capsule. Une fois l'ensemble du volume d'eau filtré, la capsule de filtration est remplie d'un tampon de conservation. Celui-ci permet d'empêcher la détérioration de l'ADN filtré. La capsule de filtration est identifiée par un numéro unique permettant de ne pas confondre les sites étudiés entre eux. La capsule ainsi identifiée est envoyée au laboratoire pour analyse.

I.2. Prélèvement en milieu courant et grand milieu stagnant

Le second protocole de prélèvement est préconisé pour les milieux aquatiques courants et peut s'adapter aux grands milieux stagnants en modifiant quelques points afin de limiter les contaminations croisées avec d'autres sites.

La méthode de prélèvement en milieu courant consiste à filtrer à travers la capsule de filtration et durant 30 minutes l'eau du milieu. Pour réaliser cette filtration nous nous positionnons dans le cours d'eau à échantillonner, de préférence en aval d'un radier afin de disposer d'une eau homogénéisée. Le préleveur a au préalable désinfecté ses bottes, cuissardes ou wadders afin de limiter les contaminations croisées entre sites et l'introduction d'invasifs ou de pathogènes. Lors de la filtration, le préleveur se positionne face au courant et toujours derrière la crépine de filtration afin de limiter les risques de contamination.

L'ensemble des manipulations est réalisé à l'aide de gants stériles. La capsule de filtration est ainsi reliée via un tuyau à une crépine immergée en continue dans le cours d'eau. Un dispositif placé sur le tuyau permet d'aspirer l'eau du milieu et de la faire transiter par la capsule de filtration. Les fragments d'ADN environnemental présents dans l'eau sont retenus au niveau de la membrane de la capsule.

Une fois le temps de filtration requis atteint, la capsule de filtration est remplie d'un tampon de conservation. Celui-ci permet d'empêcher la détérioration de l'ADN filtré. La capsule de filtration est identifiée par un numéro unique permettant de ne pas confondre les sites étudiés entre eux. La capsule ainsi identifiée est envoyée au laboratoire pour analyse.

Depuis 2018, il est conseillé en milieu courant de faire deux filtrations par cours d'eau (protocole validé avec l'AFB et dans la publication de Pont *et al.*, 2018¹) afin de gagner en robustesse et également d'optimiser la détection des espèces.

> Adaptation aux grands milieux stagnants

¹Pont, D., Rocle, M., Valentini, A., Civade, R., Jean, P., Maire, A., ... & Dejean, T. (2018). Environmental DNA reveals quantitative patterns of fish biodiversity in large rivers despite its downstream transportation. *Scientific reports*, 8(1), 10361.

Ce protocole peut s'adapter aux grands milieux stagnants. Nous réalisons ainsi la filtration en continu en réalisant une prospection du site étudié depuis une embarcation en veillant :

- à ce que l'embarcation utilisée ne navigue que dans le site étudié
- à ne pas repasser deux fois au même endroit
- à ce que la crépine soit positionnée en tête de bateau.
- à filtrer l'eau des habitats les plus propices au développement des groupes ciblés.



Figures 1 et 2 : Prélèvement avec filtration en continu sur l'étang du Vignoble à Valenciennes (Crédit :C. Lesniak)

1.3. Conditions d'applications

Ces deux protocoles peuvent être réalisés sans contraintes de période. Il convient cependant d'adapter la période de prélèvement aux périodes d'activité des groupes ciblés. Ainsi, il sera plus facile de récupérer de l'ADNe durant la période de reproduction d'une espèce cible.

1.4. Exploitation des résultats

Les résultats des analyses ADNe sont comparés si possible aux résultats de pêches réalisées par l'AFB et ses prestataires afin de mettre en évidence les avantages et inconvénients de la méthode. Pour ce faire, l'AFB a fourni à AQUABIO les données issues des pêches réalisées.

A noter qu'en 2018, les données ont été fournies sous format brut (scan des fiches terrain). Ainsi, seule la liste des espèces présentes a pu être utilisée.

Afin de limiter les risques de détections d'espèces via de l'ADNe transporté lors des pêches, les prélèvements ADNe sont préférentiellement réalisés avant les pêches. De plus, limiter le temps entre prélèvement ADNe et pêche permet de réduire le risque de crues intervenant entre les deux méthodes et qui remettraient en cause la comparaison des résultats.

II. PROTOCOLE D'ANALYSE

Pour analyser les échantillons d'ADN environnemental obtenus à l'aide des protocoles présentés ci-dessus nous disposons de deux types d'approches. Une approche spécifique aussi appelée Barcoding ADNe ou VigiDNA S et une approche multi-spécifique aussi appelée Metabarcoding ADNe ou VigiDNA M.

Pour l'approche spécifique, le laboratoire dispose d'un couple d'amorces spécifiques qui permettent d'amplifier uniquement l'ADNe de l'espèce ciblée. Cette méthode permet ainsi de déterminer la présence ou l'absence d'une espèce au sein d'un site étudié.

Pour l'approche multi-spécifique, le laboratoire dispose d'un couple d'amorces « universelles » qui permet d'amplifier l'ADNe de l'ensemble des espèces d'un groupe donné (les poissons par exemple). L'ADNe ainsi amplifié est ensuite séquencé à l'aide d'une méthode de séquençage nouvelle génération. Les séquences obtenues sont comparées à une base de données de référence contenant les espèces du groupe ciblé. Nous obtenons ainsi une liste d'espèces à partir des échantillons réalisés sur notre site d'étude. De plus, la proportion des séquences par espèce contactée et par échantillon est aussi calculée. Ceci permet d'apporter une aide à l'interprétation des résultats.

Pour cette étude c'est l'approche multi-spécifique qui a été mis en œuvre appeler aussi méthode de metabarcoding.

DÉROULEMENT DES INVENTAIRES

I. LES STATIONS ÉTUDIÉES

Pour l'année 2019, sept stations réparties sur six cours d'eau du bassin Artois-Picardie ont fait l'objet de suivis piscicoles par la méthode d'ADN environnemental. Ces stations sont les suivantes :

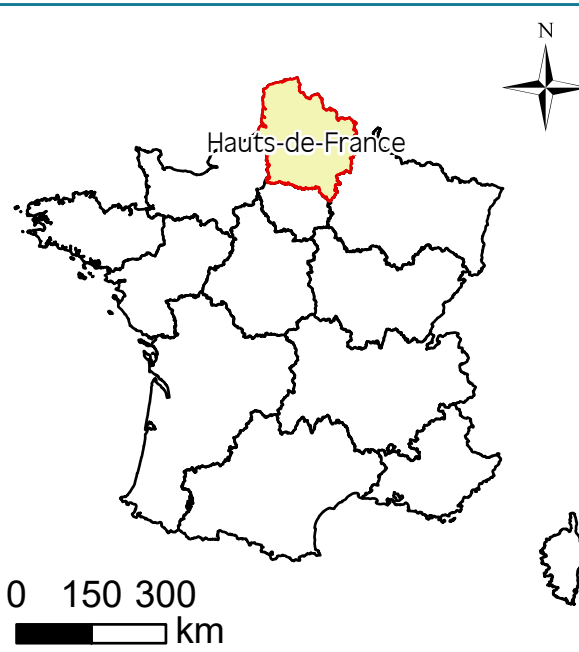
- 01000602 - LA COLOGNE À BUIRE-COURCELLES (80)
- 01000605 - L'OMIGNON À DEVISE (80)
- 01000990 - LA NIÈVRE À BERTEAUCOURT-LES-DAMES (80)
- 01002236 - LA COURSE A MOULIN DE FORDRES (62)
- 01002237 - LA HEM À TOURNEHEM (62)
- 01008000 - L'HELPE MAJEURE A TAISNIERES EN THIERACHE (59)
- 01008000new - L'HELPE MAJEURE A TAISNIERES EN THIERACHE (Le Câtelet) nouveau site (59)

Leur localisation est présentée sur la carte en page suivante. Une carte localisant plus précisément chaque station est aussi présentée dans la partie résultat.

Identification d'espèces piscicoles, à partir d'échantillons d'eau,
sur les cours d'eau et plans d'eau du bassin Artois-Picardie,
par technique utilisant l'ADN
contenu dans les échantillons
- Suivi 2019 -



Localisation des stations de mesure



Légende :

- Stations de mesure
- Villes

Cours d'eau (BdCarthage 2014)

- De plus de 100 km
- Entre 50 et 100 km
- Entre 25 et 50 km
- Entre 10 et 25 km
- Entre 5 et 10 km
- Inférieur à 5 km

Corine Land Cover (2012)

- Région(s) concernée(s)
- Océan
- Zone urbanisée
- Forêt

Source : IGN, BdCarthage, Corine Land Cover
Conception et réalisation :



Mise à jour le 11/12/2019

II. HYDROLOGIE

Pour les stations LA COLOGNE À BUIRE-COURCELLES (80) et L'OMIGNON À DEVISE (80), la station située sur La Somme à Ham est la station hydrométrique répertoriée sur la banque hydro (<http://www.hydro.eaufrance.fr>) la plus proche. L'observation des débits du cours d'eau lors des prélèvements d'ADN environnemental montre des débits stables limitant ainsi les apports d'ADN exogène. De même, aucune crue ou augmentation rapide des débits n'a été observée entre le prélèvement ADN et la pêche électrique.

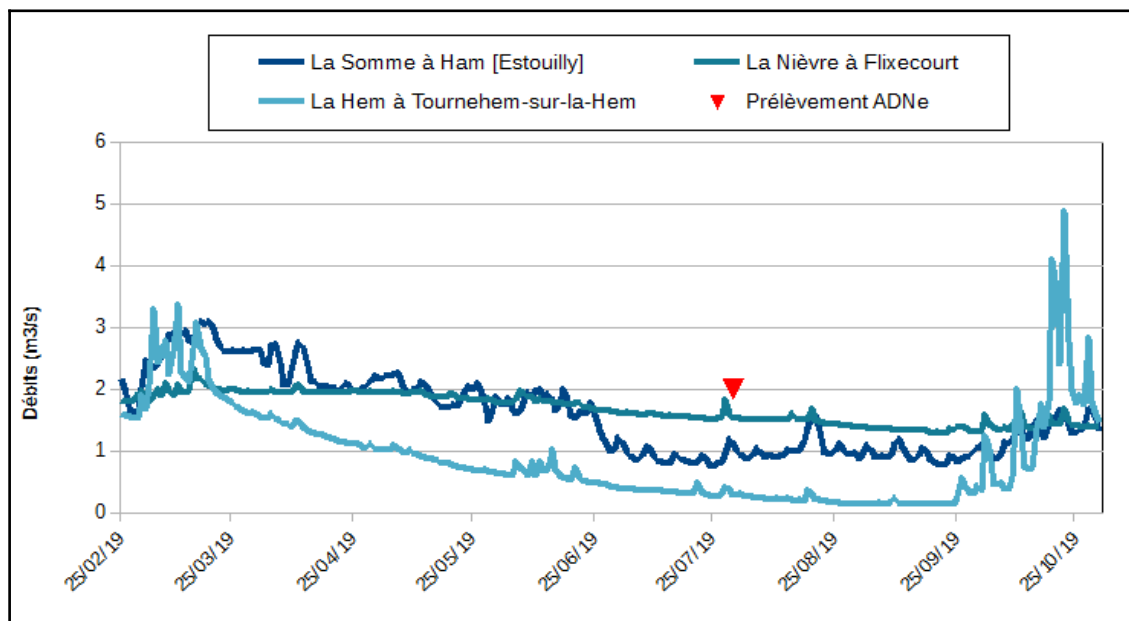


Figure 3 : Débit journalier de la Somme, la Nièvre et la Hem du 25 février au 31 octobre 2019 (source : Banque Hydro)

Pour les stations LA NIÈVRE À BERTEAUCOURT-LES-DAMES (80) et LA HEM À TOURNEHEM (62), les stations situées sur La Nièvre à Flixecourt et La Hem à Tournehem-sur-la-Hem sont respectivement les stations hydrométriques répertoriées sur la banque hydro (<http://www.hydro.eaufrance.fr>) les plus proches. L'observation des débits des cours d'eau lors des prélèvements d'ADN environnemental montre des débits stables limitant ainsi les apports d'ADN exogène. De même, aucune crue ou augmentation rapide des débits n'a été observée entre le prélèvement ADN et la pêche électrique de la Nièvre.

Enfin, pour les stations L'HELPE MAJEURE A TAISNIERES EN THIERACHE (59) (ancien et nouveau site) et LA COURSE A MOULIN DE FORDRES (62), les stations situées sur L'Helpe Majeure a Taisnieres-en-Thierache et La Canche à Brimeux sont respectivement les stations hydrométriques répertoriées sur la banque hydro (<http://www.hydro.eaufrance.fr>) les plus proches. L'observation des débits des cours d'eau lors des prélèvements d'ADN environnemental montre des débits stables limitant ainsi les apports d'ADN exogène.

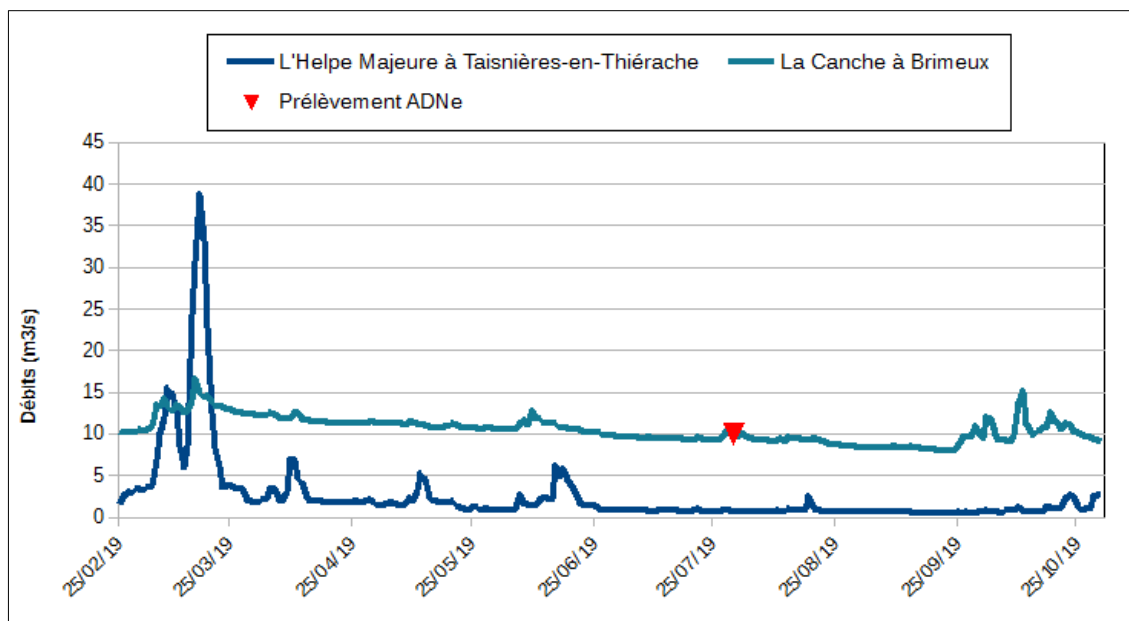


Figure 4 : Débit journalier de l'Helpe et la Canche du 25 février au 31 octobre 2019 (source : Banque Hydro)

III. DÉROULEMENT DE LA CAMPAGNE TERRAIN

Le tableau ci-après présente la date de prélèvement des stations suivies ainsi que la date de pêche et la méthodologie utilisée (complète, bateau...) afin de pouvoir comparer s'il y a lieu les résultats de pêches et les résultats des suivis ADN environnemental.

Tableau II : Déroulement de la campagne de prélèvements ADN, date et méthodologie de pêche appliquée aux stations de suivi (en gris : pas de pêche réalisée)

Code – Nom de station	Date de prélèvement ADN	Méthode de pêche	Date de pêche	Écart en nombre de jour
Cours d'eau d'Artois-Picardie				
01000602 - LA COLOGNE À BUIRE-COURCELLES (80)	31/07/19	A pied complète	07/08/19	7
01000605 - L'OMIGNON À DEVISE (80)	31/07/19	A pied complète	07/08/19	7
01000990 - LA NIÈVRE À BERTEAUCOURT-LES-DAMES (80)	31/07/19	A pied complète	08/08/19	8
01002236 - LA COURSE A MOULIN DE FORDRES	31/07/19			
01002237 - LA HEM À TOURNEHEM	30/07/19			
01008000 - L'HELPE MAJEURE A TAINIÈRES EN THIERACHE (59)	30/07/19			
01008000new - Helpe Majeure à Tainières-en-Thiérasche (Le Câtelet) nouveau site	30/07/19			

IV. PROBLÈMES RENCONTRÉS

IV.1. Annulation de stations

Aucune station n'a été annulée lors du suivi 2019.

IV.2. Robustesse des résultats

Comme indiqué dans la partie méthodologie (cf chapitre 1.2), SPYGEN préconise depuis 2018 de réaliser 2 réplicats sur chaque station en eaux courantes afin d'obtenir des résultats plus robustes. Cette préconisation était présente dans la réponse technique initiale mais comme elle n'était pas obligatoire, elle n'a pas été retenue par l'AEAP. En accord avec l'AEAP et SPYGEN un seul échantillon pour chaque station a été réalisé. Comme indiqué dans la publication de SPYGEN, les résultats seront donc à interpréter avec précaution.

RÉSULTATS ET INTERPRÉTATIONS

I. 01000602 - LA COLOGNE À BUIRE-COURCELLES (80)

I.1. Information sur le prélèvement

La carte ci-après présente la localisation précise du point de prélèvement.

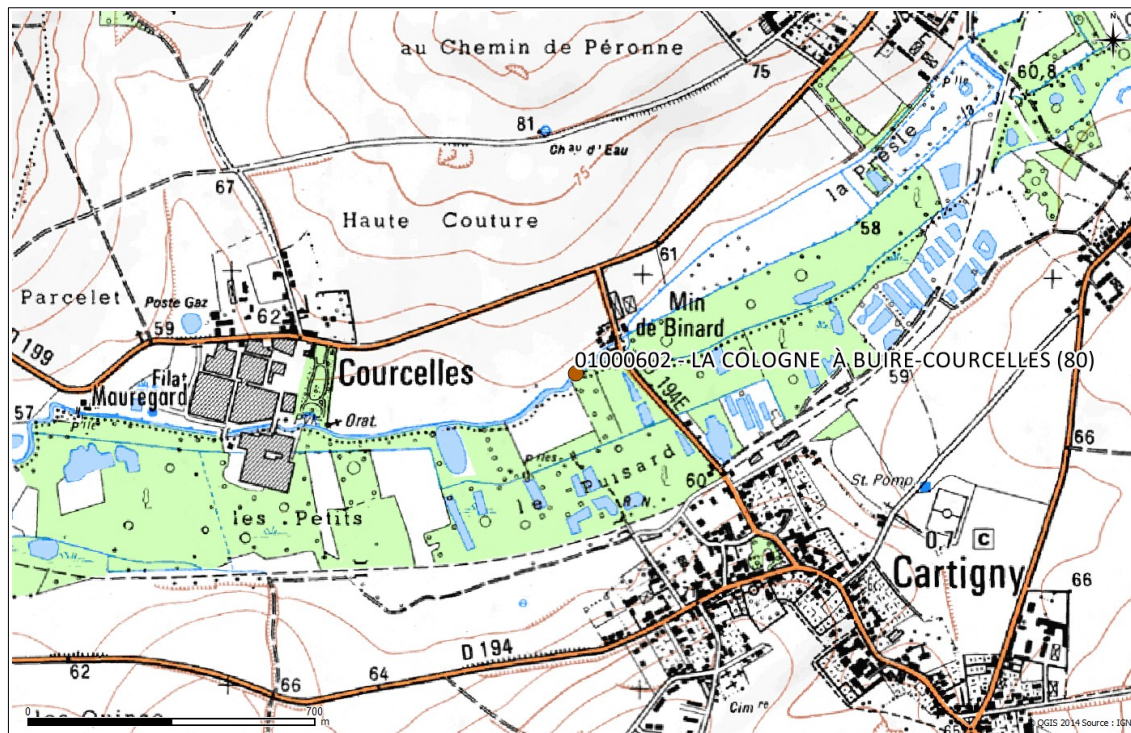


Figure 5 : Localisation précise du prélèvement fait sur la station 01000602 - LA COLOGNE À BUIRE-COURCELLES (80)

I.2. Résultats :

Tableau III : Résultats des analyses ADNe et des pêches électriques réalisées sur LA COLOGNE À BUIRE-COURCELLES (80)

Nom scientifique	Nom vernaculaire	Base de référence	La Cologne à Buire-Courcelles		
			Nombre de répliquats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN	Présence lors des pêches
<i>Anguilla anguilla</i>	Anguille européenne	SPYGEN	3	753	
<i>Rhodeus amarus</i>	Bouvière	SPYGEN	1	333	
<i>Esox lucius</i>	Brochet	SPYGEN	12	172054	X
<i>Cottus sp.</i>	Chabot	SPYGEN	12	115807	X
<i>Pungitius pungitius</i>	Epinochette	SPYGEN	12	16049	X
<i>Rutilus rutilus</i>	Gardon	SPYGEN	11	9705	
<i>Gobio sp.</i>	Goujon	SPYGEN	2	2861	X
<i>Tinca tinca</i>	Tanche	SPYGEN	7	4161	

I.3. Interprétation

Les analyses ADN environnemental ont détecté la présence d'ADN de 8 espèces de poissons sur la Cologne. Ainsi une quantité importante d'ADN a été mise en évidence pour le Brochet, l'Épinochette, le Gardon et le Chabot. Excepté cette dernière, ces espèces correspondent au peuplement d'une zone à Brèmes. Nous notons aussi la présence d'ADN, mais en moins grande quantité, d'Anguilles, de Bouvières et de Tanches, trois espèces caractéristiques elles aussi des zones plus aval des cours d'eau. Enfin, nous notons aussi la présence d'ADN d'une espèce, le Goujon, plus rhéophile mais pouvant s'acclimater aux cours d'eau calmes.

La comparaison entre les espèces détectées par l'ADN environnemental et la pêche électrique complète à pied réalisée 7 jours après montre que la détection par ADN a permis de mettre en évidence 4 espèces de plus que la pêche. Cette différence peut s'expliquer par la difficulté de capture de certaines espèces comme l'Anguille, mettant ainsi en avant les limites de la pêche électrique ou à l'inverse d'une détection par l'ADN environnemental d'espèce non présente sur la station. En effet, la présence de très nombreux étangs en amont de la station peut expliquer la détection d'ADN de Tanche et de Gardons, souvent présent dans ce type de milieu. Pour la Bouvière, la très faible quantité d'ADN détectée pourrait indiquer que cette espèce est présente en faible densité plus à l'amont ou dans les étangs elle aussi.

II. 01000605 - L'OMIGNON À DEVISE (80)

II.1. Information sur le prélèvement

La carte ci-après présente la localisation précise du point de prélèvement.

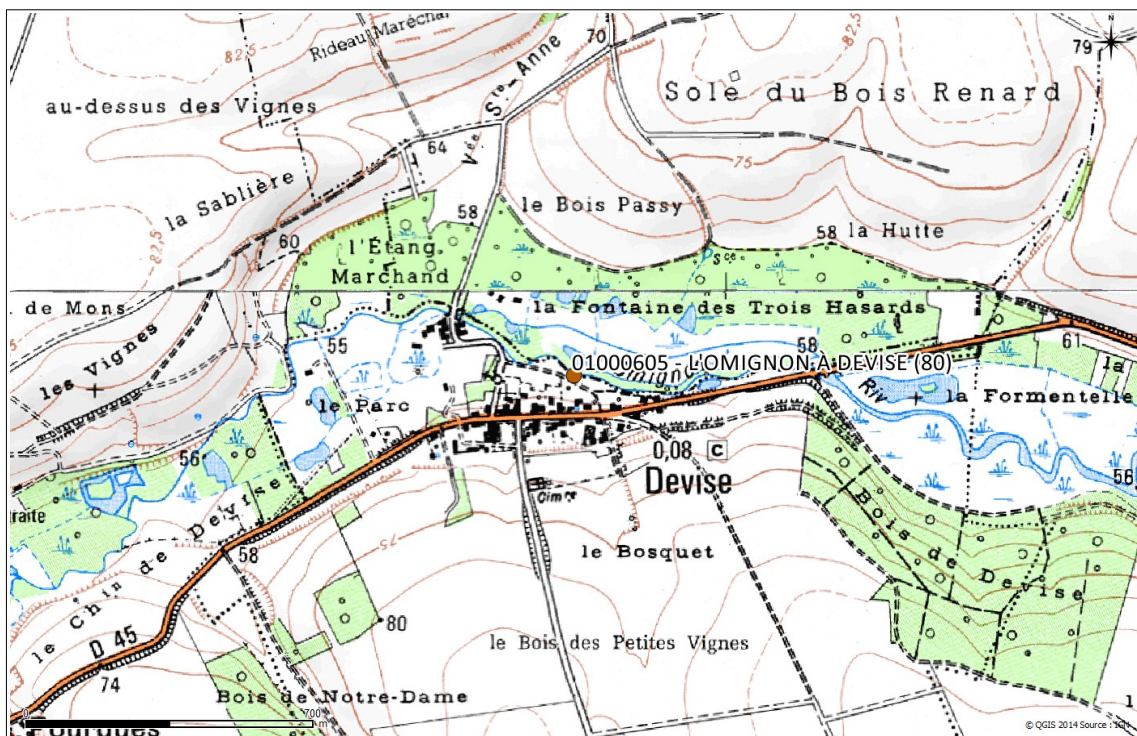


Figure 6 : Localisation précise du prélèvement fait sur la station 01000605 - L'OMIGNON À DEVISE (80)

II.2. Résultats :

Tableau IV : Résultats des analyses ADNe et des pêches électriques réalisées sur L'Omignon à Devise

Nom scientifique	Nom vernaculaire	Base de référence	L'Omignon à Devise		
			Nombre de répliquats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN	Présence lors des pêches
<i>Anguilla anguilla</i>	Anguille européenne	SPYGEN	11	3978	X
<i>Rhodeus amarus</i>	Bouvière	SPYGEN	3	372	
<i>Abramis brama</i>	Brème commune	SPYGEN	12	54284	
<i>Esox lucius</i>	Brochet	SPYGEN	12	5647	X
<i>Cottus sp.</i>	Chabot	SPYGEN	12	18260	X
<i>Squalius cephalus</i>	Chevesne	SPYGEN	12	22988	X
<i>Rutilus rutilus</i>	Gardon	SPYGEN	12	35739	X
<i>Gobio sp.</i>	Goujon	SPYGEN	12	17177	X
<i>Gymnocephalus cern</i>	Grémille	SPYGEN	6	837	
<i>Lampetra sp.</i>	Lamproie	SPYGEN			X
<i>Barbatula barbatula</i>	Loche franche	SPYGEN	12	1926	X
<i>Perca fluviatilis</i>	Perche	SPYGEN	12	10679	
<i>Lepomis gibbosus</i>	Perche-soleil	SPYGEN	6	1898	
<i>Scardinius erythroph</i>	Rotengle	SPYGEN	2	228	
<i>Tinca tinca</i>	Tanche	SPYGEN	6	634	
<i>Phoxinus phoxinus</i>	Vairon	SPYGEN	1	127	
<i>Leuciscus sp.</i>	Vandoise/Vandoise rostrée/Ide	SPYGEN	12	14621	X (Vandoise)

II.3. Interprétation

Les analyses ADN environnemental ont détecté la présence d'ADN de 16 espèces piscicoles sur l'Omignon à Devise. Ainsi une quantité importante d'ADN a été mise en évidence pour les espèces correspondant à une zone à Brème comme l'Anguille, la Brème, le Brochet, le Gardon et la Perche. Nous notons aussi la présence d'ADN d'autres espèces pouvant être présentes dans ce type de cours d'eau comme la Bouvière, la Grémille, la Perche-soleil, le Rotengle et la Tanche. Enfin, l'ADN d'autres espèces correspondant à d'autres biotypologies a été détecté comme le Goujon, le Chabot, la Loche franche, le Chevesne et le Vairon. Leur présence peut s'expliquer par le fait que le cours présente des faciès assez diversifiés avec des profondeurs et des vitesses de courant pouvant correspondre à des zones plus amont. Pour les petites quantités d'ADN trouvées, leur présence peut provenir d'apport d'ADN depuis l'amont ou les espèces sont mieux implantées. A noter que l'analyse ADN environnemental a aussi mis en évidence la présence du genre *Leuciscus* mais sans pouvoir déterminer l'espèce présente (Vandoise, Vandoise rostrée ou Ide mélanote).

La comparaison entre les espèces détectées par l'ADN environnemental et la pêche électrique réalisée 7 jours après montre que la détection par ADNe a permis de mettre en évidence 8 espèces de plus que la pêche. Parmi celles-ci, deux espèces pouvant être attendues sur le milieu (Brème commune, et perche) ont montré d'importantes quantités d'ADN dans le milieu. Vu leur absence de capture lors des pêches, plusieurs hypothèses peuvent être émises afin de l'expliquer. Ainsi, la présence uniquement d'individus de grande taille présentant des difficultés de capture mais pouvant ainsi produire de grande quantité d'ADN pourrait être en cause. Une autre hypothèse pourrait être que l'ADN provenant d'autres milieux (étangs, zone située plus en amont) pourrait aussi être en cause si les quantités d'ADN apportées sont importantes et le milieu d'origine assez proche. Pour les autres espèces, les quantités d'ADN détectées étant moindres, certaines sont probablement issues d'autres milieux et notamment d'étangs pour la Bouvière, la Perche soleil, le Rotengle et la Tanche. Enfin, l'ADN de vairon, espèce accompagnatrice de la Truite pourrait provenir de zones amont ou d'affluents de plus petite taille.

Il est à noter que la pêche a, à l'inverse, permis de mettre en évidence la présence de Lamproie, genre fouisseur pouvant donc être difficilement détectable par l'ADN environnemental et de montrer la présence de Vandoise dont seul le genre avait pu être détecté par cette méthode.

III. 01000990 - LA NIÈVRE À BERTEAUCOURT-LES-DAMES (80)

III.1. Information sur le prélèvement

La carte ci-après présente la localisation précise du point de prélèvement.

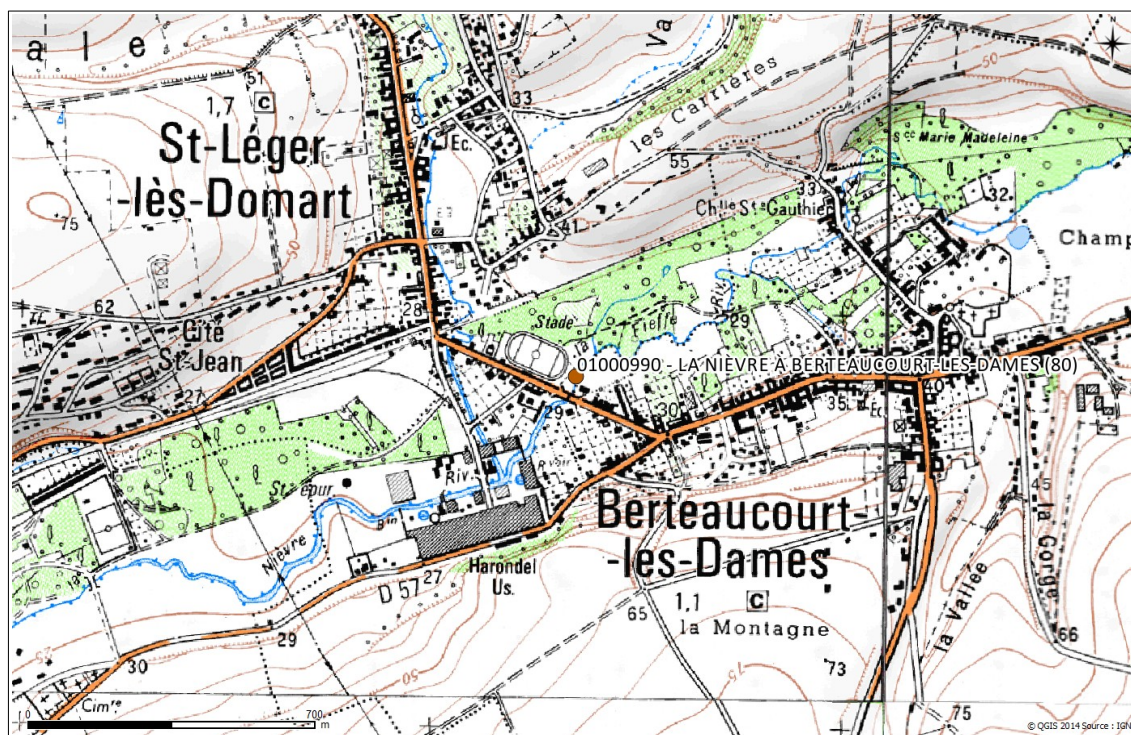


Figure 7 : Localisation précise du prélèvement fait sur la station 01000990 - LA NIÈVRE À BERTEAUCOURT-LES-DAMES (80)

III.2. Résultats :

Tableau V : Résultats des analyses ADNe réalisées sur La Nièvre à Berteaucourt-les-Dames

Nom scientifique	Nom vernaculaire	Base de référence	La Nièvre à Berteaucourt les dames		
			Nombre de répliquats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN	Présence lors des pêches
<i>Anguilla anguilla</i>	Anguille européenne	SPYGEN	9	264	X
<i>Cottus sp.</i>	Chabot	SPYGEN	12	18176	X
<i>Squalius cephalus</i>	Chevesne	SPYGEN			X (1 seul indiv)
<i>Gasterosteus aculeatus</i>	Epinoche	SPYGEN	9	324	
<i>Rutilus rutilus</i>	Gardon	SPYGEN	12	21616	X
<i>Lampetra sp.</i>	Lamproie	SPYGEN	12	569	X
<i>Salmo trutta</i>	Truite fario	SPYGEN	12	28377	X
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Truite-Arc-en-Ciel	SPYGEN	12	167620	
<i>Blicca bjoerkna</i>	Brème bordelière	SPYGEN			X (1 seul indiv)

III.3. Interprétation

Les analyses ADN environnemental ont détecté la présence d'ADN de 7 espèces piscicoles sur la Nièvre à Berteaucourt. Ainsi une quantité importante d'ADN a été mise en évidence pour les espèces correspondant à une zone à Truite comme la Truite, le Chabot et la Lamproie mais aussi de zones à Brème comme l'Anguille et le Gardon. L'analyse met aussi en évidence la présence d'épinoche, espère préférant les milieux plutôt lentiques, le Chevesne, espèce assez ubiquistes et enfin la truite arc-en-ciel, espèce naturellement absente des cours d'eau français mais empoisonnée par les associations de pêche pour la pratique de la pêche de loisir. Toutes les espèces ont montré une quantité importante d'ADN dans le milieu.

La comparaison entre les espèces détectées par l'ADN environnemental et la pêche électrique réalisée 8 jours après montre que la détection par ADNe a permis de mettre en évidence 2 espèces de plus que la pêche. Celles-ci sont l'Epinoche qui, vivant préférentiellement dans les herbiers, peut présenter des difficultés de capture et la truite arc-en-ciel dont l'ADN peut provenir de pisciculture ou d'empoisonnements effectués plus en amont ou encore de la consommation humaine via les rejets domestiques. A l'inverse, la pêche électrique a mis en évidence la présence d'un Chevesne et d'une Brème bordelière. Ceux-ci étant tout deux représentés par un seul individu, leur déplacement de l'aval du cours d'eau vers la station durant la semaine espaçant les deux prélèvements pourrait expliquer leur présence lors des pêches et l'absence de détection par la méthode d'ADN environnemental.

IV. 01002236 - LA COURSE A MOULIN DE FORDRES

IV.1. Information sur le prélèvement

La carte ci-après présente la localisation précise du point de prélèvement.

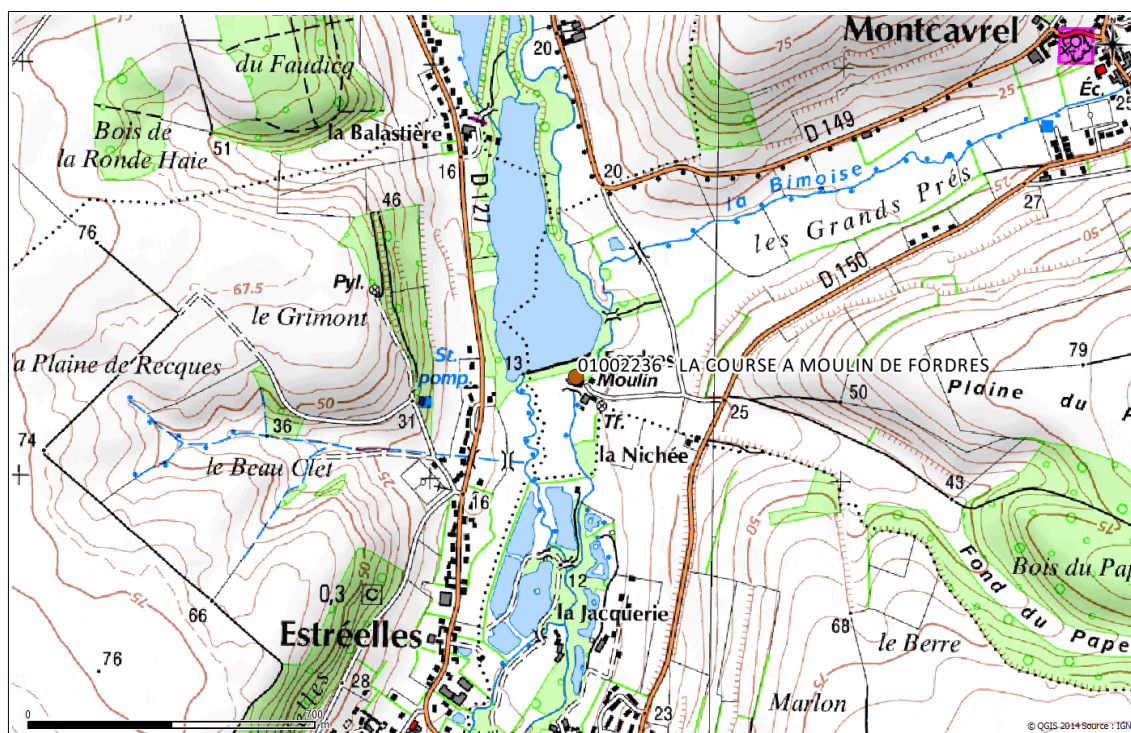


Figure 8 : Localisation précise du prélèvement fait sur la station 01002236 - LA COURSE A MOULIN DE FORDRES

IV.2. Résultats :

Tableau VI : Résultats des analyses ADNe sur La Course à Moulin de Fordres

Nom scientifique	Nom vernaculaire	Base de référence	La Course à Moulin de Fordres		
			Nombre de répliquats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN	Présence lors des pêches
<i>Anguilla anguilla</i>	Anguille européenne	SPYGEN	12	1127	
<i>Cottus sp.</i>	Chabot	SPYGEN	12	13173	
<i>Salvelinus sp.</i>	Cristivomer/omble chevalier/saumon de fontaine	SPYGEN	2	92	
<i>Gasterosteus aculeatus</i>	Epinoche	SPYGEN	6	138	
<i>Lampetra sp.</i>	Lamproie	SPYGEN	8	263	
<i>Salmo salar</i>	Saumon atlantique	SPYGEN	3	117	
<i>Salmo trutta</i>	Truite fario	SPYGEN	12	19795	
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Truite-Arc-en-Ciel	SPYGEN	12	197474	

IV.3. Interprétation

Les analyses ADN environnemental ont détecté la présence d'ADN de 8 espèces piscicoles sur la Course à Moulin de Fordres. Ainsi une quantité importante d'ADN a été mise en évidence pour les espèces correspondant à une zone à Truite comme la Truite, le Chabot et la Lamproie mais aussi en évidence la présence d'épinoche, espèce préférant les milieux plutôt lenticules et d'Anguille, espèce plus présente dans les zones aval des cours d'eau. Enfin plusieurs espèces ont été détectées mais dont la présence dans le cours d'eau ou son origine naturelle sont plutôt improbables. En effet, la truite arc-en-ciel et les espèces du genre *Salvelinus* (Cristivomer, Saumon de fontaine, Omble chevalier), sont naturellement absentes des cours d'eau français (présent tout de même en lac d'altitude pour l'Omble chevalier) mais peuvent être empoissonnées par les associations de pêche pour la pratique de la pêche de loisir pour la truite arc-en-ciel notamment, ou leur détection peut provenir de piscicultures ou encore de la consommation humaine via les rejets domestiques. Enfin, la présence de Saumon atlantique peut être elle aussi due aux apports de piscicultures ou à sa consommation mais pourrait aussi indiquer une montaison du Saumon dans la Course.

V. 01002237 - LA HEM À TOURNEHEM

V.1. Information sur le prélèvement

La carte ci-après présente la localisation précise du point de prélèvement.

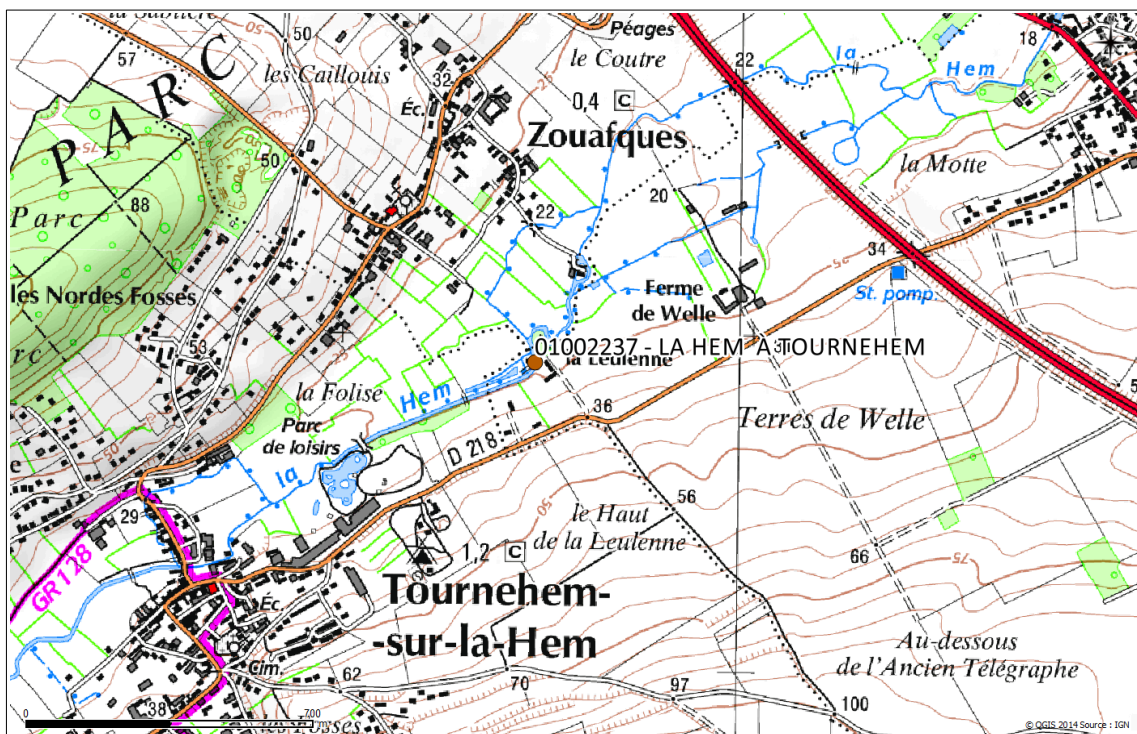


Figure 9 : Localisation précise du prélèvement fait sur la station 01002237 - LA HEM À TOURNEHEM

V.2. Résultats :

Tableau VII : Résultats des analyses ADN réalisées sur La Hem à Tournehem

Nom scientifique	Nom vernaculaire	Base de référence	La Hem à Tournehem		
			Nombre de répliquats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN	Présence lors des pêches
<i>Anguilla anguilla</i>	Anguille européenne	SPYGEN	12	10252	
<i>Carassius sp.</i>	Carassin	SPYGEN	6	302	
<i>Cottus sp.</i>	Chabot	SPYGEN	12	62027	
<i>Gasterosteus aculeatus</i>	Épinoche	SPYGEN	9	667	
<i>Lampetra sp.</i>	Lamproie	SPYGEN	11	1884	
<i>Barbatula barbatula</i>	Loche franche	SPYGEN	12	12875	
<i>Perca fluviatilis</i>	Perche	SPYGEN	7	602	
<i>Salmo trutta</i>	Truite fario	SPYGEN	12	26856	
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Truite-Arc-en-Ciel	SPYGEN	12	1114	
<i>Phoxinus phoxinus</i>	Vairon	SPYGEN	12	70914	
<i>Leuciscus sp.</i>	Vandoise/Vandoise rostrée/Id	SPYGEN	12	9744	

V.3. Interprétation

Les analyses ADN environnemental ont détecté la présence d'ADN de 11 espèces piscicoles sur la Hem à Tournehem. Ainsi une quantité importante d'ADN a été mise en évidence pour les espèces correspondant à une zone à Truite comme la Truite, le Chabot et le Vairon et de manière plus générale pour des espèces préférant les milieux courant et oxygénés de tête de bassin comme la Lamproie et probablement la Vandoise dont le genre *Leuciscus* a été détecté. L'analyse met aussi en évidence la présence d'espèces plus présentes dans les zones aval des cours d'eau comme l'Anguille ou de manière générale plus limnophiles comme le Carassin, la Perche et l'Épinoche. Les quantités d'ADN détectées étant moins importantes pour ses trois dernières espèces, son origine pourrait provenir d'un étang situé plus en amont ou les espèces seraient réellement présentes. Enfin, une quantité importante d'ADN de Truite arc-en-ciel a été mise en évidence. Cette espèce n'étant pas naturellement présente dans les cours d'eau, l'ADN détecté pourrait être du à un empoisonnement du cours d'eau au niveau de la station ou en amont, ou alors, pourrait provenir de pisciculture et/ou de la consommation humaine via les rejets domestiques.

VI. 01008000 - L'HELPE MAJEURE A TAINIERES EN THIERACHE (NOUVEAU ET ANCIEN SITE)

VI.1. Information sur le prélèvement

Les cartes ci-après présentent la localisation précise des deux points de prélèvement.

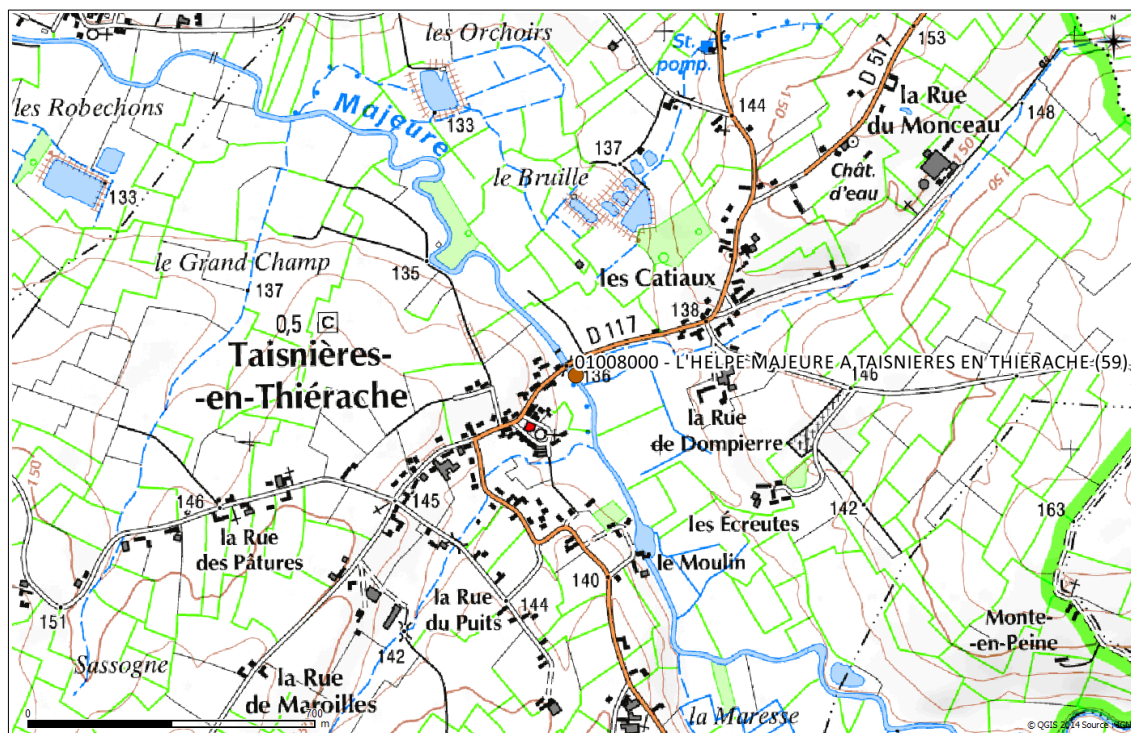


Figure 10 : Localisation précise du prélèvement fait sur la station 01008000 - L'HELPE MAJEURE A TAINIERES EN THIERACHE (59)

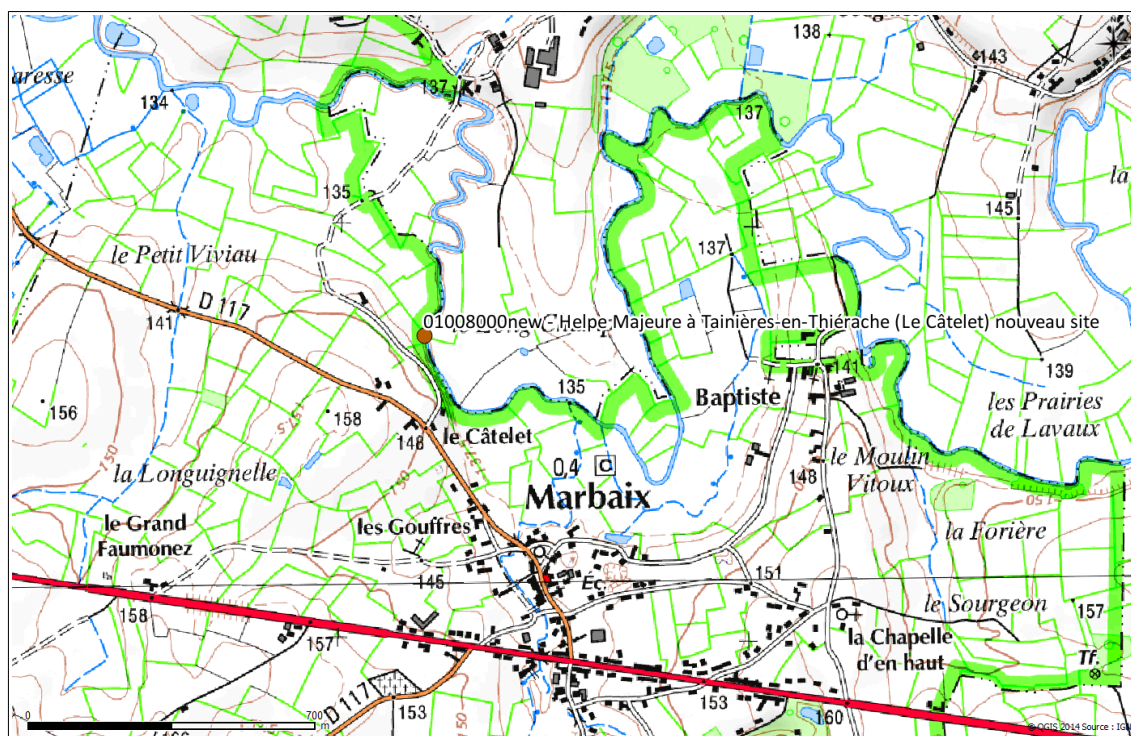


Figure 11 : Localisation précise du prélèvement fait sur la station 01008000new - Helpe Majeure à Tainières-en-Thiérache (Le Câtelet) nouveau site

VI.2. Résultats :

Tableau VIII : Résultats des analyses ADN réalisées sur l'Helpe majeure à Taisnières en Thierache

Nom scientifique	Nom vernaculaire	Base de référence	l'Helpe majeure à Taisnières en Thierache			
			Ancien site		Nouveau site	
			Nombre de répliquats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN	Nombre de répliquats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN
<i>Leucaspilus delineatus</i>	Able de Heckel	SPYGEN	2	273	-	-
<i>Alburnus alburnus</i>	Ablette	SPYGEN	12	35413	12	13467
<i>Barbus barbus</i>	Barbeau fluviatile	SPYGEN	12	15455	12	20935
<i>Rhodeus amarus</i>	Bouvière	SPYGEN	12	12566	7	1562
<i>Abramis brama</i>	Brème commune	SPYGEN	12	26040	11	8568
<i>Esox lucius</i>	Brochet	SPYGEN	8	2806	5	786
<i>Cyprinus carpio</i>	carpe commune	SPYGEN	11	2527	-	-
<i>Cottus sp.</i>	Chabot	SPYGEN	12	16421	12	16680
<i>Squalius cephalus</i>	Chevesne	SPYGEN	12	50285	12	24664
<i>Gasterosteus aculeatus</i>	Epinoche	SPYGEN	1	249	1	315
<i>Rutilus rutilus</i>	Gardon	SPYGEN	12	65672	12	37277
<i>Gobio sp.</i>	Goujon	SPYGEN	12	36075	12	30743
<i>Gymnocephalus cernuus</i>	Grémille	SPYGEN	11	16458	11	4198
<i>Cobitis taenia</i>	Loche épineuse	SPYGEN	11	7498	9	2428
<i>Barbatula barbatula</i>	Loche franche	SPYGEN	12	9898	12	30181
<i>Perca fluviatilis</i>	Perche	SPYGEN	12	20470	12	14413
<i>Tinca tinca</i>	Tanche	SPYGEN	11	5038	12	3237
<i>Phoxinus phoxinus</i>	Vairon	SPYGEN	12	8417	12	33185
<i>Leuciscus sp.</i>	Vandoise/Vandoise rostrée/Id	SPYGEN	12	11666	12	10189

VI.3. Interprétation

Les analyses ADN environnemental ont détecté la présence d'ADN de 19 espèces piscicoles sur l'ancienne station de l'Helpe majeure à Taisnières en Thiérache et 17 sur le nouveau site situé au niveau du lieu dit Le Câtelet. Pour les deux sites, une quantité importante d'ADN a été mise en évidence pour les espèces correspondant à une zone à Barbeau comme le Barbeau, le Chevesne, le Brochet et la Perche, ou une zone à Brème comme l'Ablette, l'Anguille, la Brème, le Gardon et la Tanche.

Nous notons aussi la présence d'ADN d'autres espèces pouvant être présentes dans ce type de cours d'eau comme la Bouvière, la Grémille et la Loche épineuse appelé aussi Loche de rivière. Enfin, l'ADN d'autres espèces correspondant à d'autres biotypologies a été détecté comme le Goujon, le Chabot, la Loche franche et le Vairon. Leur présence peut s'expliquer par le caractère ubiquiste de ces espèces pouvant occuper des zones plus lenticules et plus profondes que celles attendues. L'ADN de ces espèces peut aussi avoir pour source les affluents présents en amont des deux stations étudiées.

En plus de ces espèces, les deux stations ont montré une petite quantité d'ADN d'Epinoche, espèce surtout rencontrée dans les rivières de plaine comme l'Helpe mais aussi dans les étangs et autres milieux lacustres. La faible quantité d'ADN détectée peut être due à une très faible densité d'épinoches sur les sites étudiés ou à sa présence plus en amont ou dans les étangs alentours. Les deux stations ont montré en plus la présence du genre *Leuciscus* mais sans pouvoir déterminer l'espèce présente.

Enfin la différence de diversité entre les deux peuplements est due à la présence sur l'ancien site situé plus en aval d'ADN de Carpe Commune et d'Able de Heckel. Ces deux espèces correspondent bien au type de milieu et au peuplement attendu et observé sur l'Helpe. Leur détection uniquement à l'aval pourrait être expliquée par la présence d'obstacles infranchissables entre les deux stations cloisonnant ainsi les peuplements, ou par la présence de ces espèces non pas dans l'Helpe mais dans les étangs présents entre les deux sites. Cette dernière hypothèse est renforcée par l'utilisation volontaire de la Carpe pour l'empoissonnement d'étangs et l'empoissonnement involontaire régulièrement observé de l'Able du fait de sa petite taille et de la confusion possible avec d'autres alevins de cyprinidés.

CONCLUSION

Au vu des analyses hydrobiologiques effectuées en juillet 2019 sur les cours d'eau du bassin Artois Picardie, nous aboutissons aux conclusions suivantes :

- > Une diversité importante d'espèces a été détectée par la méthode ADNe sur l'ensemble des stations prospectées avec un maximum observé sur l'Helpe majeure.
- > La comparaison des résultats des pêches effectuées et des prélèvements ADN montre des différences pouvant être importantes en fonction des stations et met ainsi en évidence les limites de la méthode de pêche employée (difficulté de capture de certaines espèces ou individus) mais aussi de la méthode de détection par ADN (difficulté de conclure sur la présence réelle d'une espèce au niveau du site étudié).
- > Plusieurs contaminations probablement issues d'autres milieux (étangs, affluents, secteurs plus amont) et dans certains cas de la consommation humaine de certaines espèces (via les rejets de STEP et les piscicultures) sont suspectées parmi les résultats.