

WEBINAIRE ADNe – 25 NOVEMBRE 2021
SYNTHÈSE DE LA JOURNÉE DE RÉFLEXION SUR LE POTENTIEL DES MÉTHODES
BASÉES SUR L'ADN ENVIRONNEMENTAL POUR LA SURVEILLANCE ET
L'ÉVALUATION DE LA BIODIVERSITÉ MARINE DANS LE CADRE DES POLITIQUES
PUBLIQUES

Sylvie Cartier, Anaïs Rey, Marine Delesalle et Pierre Thiriet

Février 2022

PATRI NAT

Centre d'expertise et de données sur le patrimoine naturel

Un service commun de
l'Office français de la biodiversité,
du Centre national de la recherche scientifique
et du Muséum national d'Histoire naturelle



www.ofb.gouv.fr



www.cnrs.fr



www.mnhn.fr

Nom du Programme/Projet : Appui scientifique à la mise en œuvre de la Directive Cadre Stratégie sur le Milieu Marin, mandats co-responsables thématique et surveillance Poissons-Céphalopodes

Webinaire organisé par PatriNat avec l'appui de MarkediA, agence spécialisée en communication publique et environnementale (markedia.net) pour la réalisation des actes

Chef de projet : Pierre Thiriet

Chargées de mission : Anaïs Rey et Marine Delesalle

Experts mobilisés : Benjamin Alric (SBR), Agnès Bouchez (INRAE), Arnaud Collin (VigiLife), Isabelle Domaizon (INRAE), Jean-Luc Jung (UBO/MNHN/ISYEB), Albin Meyer (INRAE), Erwan Quéméré (INRAE), Frédéric Rimet (INRAE), Naiara Rodriguez Ezpeleta (AZTI), Raffaele Siano (Ifremer), Verena Trenkel (Ifremer), Alice Valentini (SPYGEN), Frédérique Viard (CNRS-ISEM)

Rédacteurs : Sylvie Cartier (MarkediA), Anaïs Rey (PatriNat), Marine Delesalle (PatriNat), Pierre Thiriet (PatriNat)

Relecture : Anne Souquière

Référence du rapport conseillée : Cartier Sylvie, Rey Anaïs, Delesalle Marine et Thiriet Pierre. 2022. Webinaire ADNe – 25 novembre 2021. Synthèse de la journée de réflexion sur le potentiel des méthodes basées sur l'ADN environnemental pour la surveillance et l'évaluation de la biodiversité marine dans le cadre des politiques publiques. Rapport PatriNat. 18 pages et annexes.

PatriNat

Centre d'expertise et de données sur le patrimoine naturel



Depuis janvier 2017, PatriNat assure des missions d'expertise et de gestion des connaissances pour ses trois tutelles, que sont l'Office français de la biodiversité (OFB), le Centre national de la recherche scientifique (CNRS), et le Muséum national d'Histoire naturelle (MNHN).

Son objectif est de fournir une expertise fondée, d'une part, sur la collecte et l'analyse de données de la biodiversité marine et terrestre et de la géodiversité présentes sur le territoire français, en métropole comme en outre-mer, et, d'autre part, sur la maîtrise et l'apport de nouvelles connaissances en écologie, sciences de l'évolution et anthropologie. Cette expertise, établie sur une approche scientifique, doit contribuer à faire émerger les questions et à proposer les réponses permettant d'améliorer les politiques publiques portant sur la biodiversité, la géodiversité et leurs relations avec les sociétés et les humains.

En savoir plus : patrinat.fr

Co-directeurs :

Laurent PONCET et Julien TOUROULT

Inventaire national du patrimoine naturel



Porté par PatriNat, cet inventaire est l'aboutissement d'une démarche qui associe scientifiques, collectivités territoriales, naturalistes et associations de protection de la nature, en vue d'établir une synthèse sur le patrimoine naturel en France. Les données fournies par les partenaires sont organisées, gérées, validées et diffusées par le MNHN. L'INPN est un dispositif clé du Système d'information de l'inventaire du patrimoine naturel (SINP) et de l'Observatoire national de la biodiversité (ONB).

Afin de gérer cette importante source d'informations, le MNHN a construit une base de données permettant d'unifier les données à l'aide de référentiels taxonomiques, géographiques et administratifs. Il est ainsi possible d'accéder à des listes d'espèces par commune, par espace protégé ou par maille de 10x10 km. Grâce à ces systèmes de référence, il est possible de produire des synthèses, quelle que soit la source d'information.

Ce système d'information permet de consolider des informations qui étaient jusqu'à présent dispersées. Il concerne la métropole et l'outre-mer, aussi bien sur la partie terrestre que marine. C'est une contribution majeure pour la connaissance naturaliste, l'expertise, la recherche en macroécologie et l'élaboration de stratégies de conservation efficaces du patrimoine naturel.

En savoir plus : inpn.mnhn.fr

SOMMAIRE

INTRODUCTION	5
1 LES PRINCIPES GÉNÉRAUX	5
1.1 De quoi parle-t-on ?	5
1.1.1 Définitions	5
1.1.2 Méthodes	5
1.1.3 De la détection à l'interprétation.....	6
1.2 De nouvelles perspectives	6
1.2.1 Des atouts prometteurs	6
1.2.2 De multiples applications potentielles	6
1.3 Des réseaux d'acteurs travaillant sur l'ADNe.....	7
1.3.1 DNAqua-Net	7
1.3.2 Vigilife	7
1.3.3 ROME (Réseau d'Observatoires pour la recherche en Microbiologie Environnementale intégrée).....	7
1.3.4 Élaborer un réseau de suivi pour la DCSMM ? Réflexions à partir du suivi des poissons côtiers rocheux.....	8
2 POTENTIEL ET LIMITES DE L'ADNe : APPROCHE PAR GRANDES COMPOSANTES BIOCÉNOTIQUES	9
2.1 Habitats benthiques.....	9
2.1.1 Bio-indication des diatomées	9
2.1.2 Travaux sur les mollusques : RETEX.....	9
2.1.3 Cas des macro-invertébrés benthiques en rivière.....	10
2.1.4 Suivi des habitats benthiques des milieux marins : quelles possibilités ?	10
2.2 Habitats pélagiques	10
2.3 Espèces mobiles.....	11
2.3.1 Détection et suivi d'espèces piscicoles en milieu lacustre	11
2.3.2 Surveillance des stocks halieutiques	11
2.3.3 Surveiller les poissons des estuaires aux profondeurs de l'océan	12
2.3.4 Détection de mammifères marins par analyse d'ADNe	12
2.4 Espèces non-indigènes marines.....	13
2.5 Perspectives sur les réseaux trophiques.....	14
3 PERSPECTIVES ET SUITES À DONNER.....	14
3.1 Standardisation : trouver le bon équilibre.....	14
3.2 Bancarisation	15
3.3 Adaptation des indicateurs.....	15
3.4 Coopération avec les gestionnaires porteurs d'enjeux	16
3.4.1 Adapter les méthodes ADNe aux besoins	16
3.4.2 Avancer sur une stratégie de mutualisation ?.....	16
3.4.3 Définir des cahiers des charges	16
4 CONCLUSION	17
5 ANNEXES.....	18
Liste des intervenants	18
Infographie sur les méthodes de suivi	19

INTRODUCTION

L'utilisation de l'ADN environnemental (ADNe) pour suivre les patrons spatio-temporels de la biodiversité est en plein essor. De nombreux travaux démontrent le potentiel de l'ADNe pour alimenter les besoins d'acquisition de connaissance et de surveillance de la biodiversité dans le cadre des politiques publiques pour un certain nombre de composantes biocénétiques, en eaux continentales et/ou marines.

La journée de réflexion du 25 novembre 2021 organisée par PatriNat s'est inscrite dans la perspective d'élaborer une stratégie de suivi ADNe optimisée pour le milieu marin, couvrant autant que possible les différentes composantes de biodiversité marine en lien avec les politiques publiques.

Une cinquantaine de personnes se sont connectées, associant des experts, des scientifiques, des gestionnaires et des porteurs de projets. Les intervenants ont été invités à rendre compte de leurs expériences terrain ou de leurs travaux faisant intervenir l'ADNe dans les milieux aquatiques – en eau douce et dans les milieux marins – en portant leurs analyses sur deux grands axes de réflexion :

- L'intérêt de l'ADNe par grandes composantes biocénétiques : quels potentiels offrent les méthodologies basées sur l'ADNe pour répondre aux enjeux de connaissance et de suivi ? quelles sont les limites et les stratégies d'amélioration à suivre ? quel est l'état d'avancement des dispositifs de suivi recourant à l'ADNe ? quels points spécifiques doivent être traités (échelle spatio-temporelle, méthode de prélèvement...) ?
- Plus généralement, l'intérêt et la faisabilité d'un dispositif de surveillance ADNe mutualisé, permettant de suivre plusieurs composantes biocénétiques et/ou répondre à différents besoins et enjeux de suivi (politiques publiques, Aires Marines Protégées, Energies Marines Renouvelables...).

Le présent document propose une synthèse des différentes présentations et des échanges lors du webinaire, sans pour autant viser un état de l'art exhaustif sur l'utilisation de l'ADNe pour l'évaluation de la biodiversité.

1 LES PRINCIPES GÉNÉRAUX

1.1 De quoi parle-t-on ?

1.1.1 Définitions

Les approches traditionnelles de la surveillance de la biodiversité dans les milieux aquatiques reposent sur la détermination taxonomique effectuée majoritairement par reconnaissance morphologique des organismes. A contrario, les méthodes basées sur l'ADN environnemental (ADNe) consistent à récolter des échantillons environnementaux (eau, sédiments) ou ciblant un ensemble d'organismes (biofilms, contenus stomacaux, larves...) en vue de l'extraction de l'ADN et de son séquençage. L'identification des organismes est alors réalisée à partir de bases de référence permettant d'établir des correspondances entre les séquences ADN et la taxonomie.

Cette approche est rendue possible par le fait que tous les organismes (e.g. poissons, macro invertébrés, diatomées...) présentent de l'ADN (intra-cellulaire) et libèrent généralement de l'ADN dans leur environnement (ADN extracellulaire).

Aussi, différentes définitions de l'ADNe ont été données, selon que l'on considère l'ADN extracellulaire uniquement (i.e. en récupérant les traces laissées par les organismes) ou que l'on considère également l'intracellulaire (i.e. en capturant les organismes). La première se définit dans la littérature comme étant : « *Environmental DNA (eDNA) refers to DNA that can be extracted from environmental samples (such as soil, water or air), without first isolating any target organisms* » (Taberlet et al. 2012¹). Dans ce cas, il n'y a pas de

prélèvement des organismes. Cependant, dans le cadre de ce webinaire, **il est proposé de retenir un sens plus large à l'ADNe, incluant également l'ADN extrait d'une collection d'organisme**. Est ainsi pris en compte l'ADN de tous les organismes présents dans des échantillons environnementaux ou d'ensembles d'organismes échantillonnés, ce qui inclut les micro-organismes, la meiofaune et les macro-organismes, en spécifiant le type d'échantillon et le groupe taxonomique auquel on s'intéresse, sans faire de distinction stricte entre ADN extra ou intra-cellulaire.

À noter que l'ADN d'organismes qui ne sont pas présents dans un milieu (par exemple : ADN arrivé par dérive, courants ou par des effluents) peut être trouvé, de même que des traces d'organismes vivant à l'interface avec le milieu aquatique.

1.1.2 Méthodes

Le travail sur l'ADNe dans les milieux aquatiques implique de passer par différentes étapes (Figure 1) : le prélèvement (p. ex. : réaliser un prélèvement d'eau, de sédiment, de biofilm ou ensemble d'organismes) ; la filtration pour les prélèvements d'eau (récupérer l'ADN sur un filtre) ; l'extraction de l'ADN. Après l'extraction d'ADN, l'analyse peut être réalisée par plusieurs techniques moléculaires

¹ Taberlet, P., Coissac, E., Hajibabaei, M., & Rieseberg, L. H. (2012). Environmental dna. *Molecular ecology*, 21(8), 1789-1793.

choisies en fonction des objectifs à atteindre. Dans le cadre du webinaire, les deux approches présentées sont les plus communes à l'heure actuelle pour le suivi de la biodiversité :

- Pour réaliser des inventaires de biodiversité, l'approche de metabarcoding est utilisée. Elle est basée sur l'amplification par PCR d'une région précise du génome, généralement courte, suivie du séquençage haut-débit des amplicons. Les séquences obtenues sont analysées afin de nettoyer le jeu de données et de réaliser une assignation taxonomique (association taxon-séquence) selon une base de référence afin d'obtenir une liste de taxons.
- Pour la recherche et/ou la quantification spécifique d'une ou plusieurs espèces cibles, la PCR quantitative ou, plus récemment, la dPCR (digital PCR), sont utilisées. Sont alors analysés les signaux permettant de détecter et de quantifier une ou plusieurs espèces.

1.1.3 De la détection à l'interprétation

L'enjeu est de comprendre suffisamment finement le signal obtenu à partir de l'ADNe pour l'interpréter. Pour ce faire, il convient de comprendre et de mieux appréhender son origine, son état, sa forme dans l'environnement et son transport :

- Connaître l'origine du signal : connaître l'écologie de sa cible (par exemple, la période de reproduction de l'espèce pendant laquelle le poisson libère des gamètes), savoir quel marqueur a été utilisé (ciblage taxonomique du marqueur).
- Appréhender l'état dans lequel est l'ADN (son niveau de dégradation) pour définir la taille et le type de filtre à utiliser.
- Réfléchir au devenir de l'ADN dans l'eau : intégrer les facteurs environnementaux, cerner les sources de dégradation potentielles, comprendre la représentativité temporelle du signal...
- Comprendre son transport (dont les sources de dégradation potentielles) et savoir si on repère un signal vivant ou un signal ancien remis en suspension.

1.2 De nouvelles perspectives

1.2.1 Des atouts prometteurs

Si le potentiel des méthodes basées sur l'ADNe doit être analysé au regard de chacune des grandes composantes biocénétiques, et des objectifs visés de surveillance, un consensus s'est établi sur les grands atouts du recours à l'ADNe :

- nombre d'espèces identifiées généralement plus élevé par l'ADNe que par les méthodes conventionnelles ;
- diminution de la durée des suivis (collections et traitements des échantillons) et potentiellement des coûts ; possibilité de réaliser des suivis à plus-haute fréquence et grain plus fin (multiplication des points spatio-temporels)
- dans le cas des organismes macroscopiques (notamment poissons, mammifères marins, ...) : caractère non-invasif pour les espèces et les habitats, l'ADNe ne nécessitant pas de prélever les individus ;
- mutualisation de l'expertise taxonomique : sollicitation uniquement lors de la mise en place des bases de référence ;
- favorisation de l'*open access* : outils développés et données de séquençage accessibles et ré-analysables si besoin,

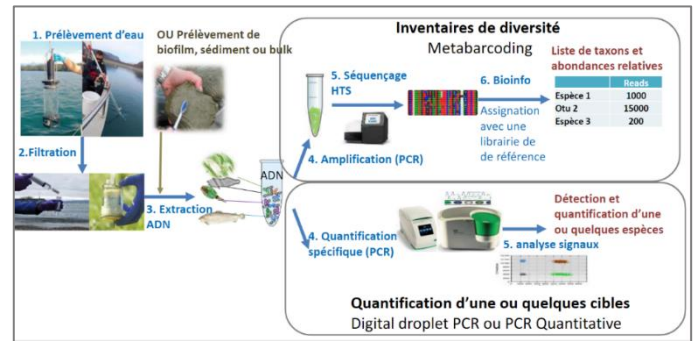


Figure 1: Principales étapes et approches (source : intervention d'Agnès BOUCHEZ)

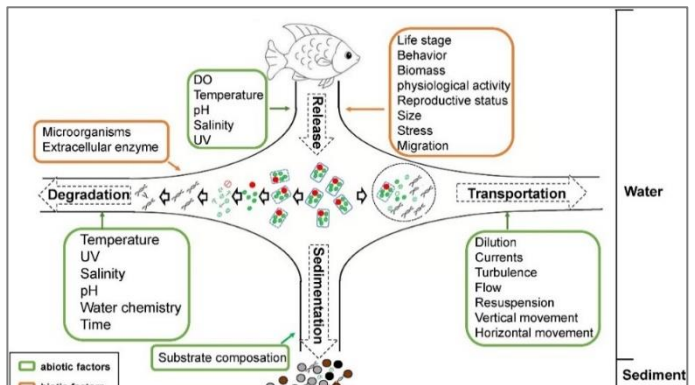


Figure 2: Schematic diagram illustrating the known associations of various influencing factors (biotic and abiotic) and the basic processes and fates (source: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969720361519>)

Prendre en compte ces informations place les équipes face à des défis techniques élevés pour aborder le travail d'inventaire basé sur l'ADNe. Les cas d'études présentés en partie 3 mettent en lumière certains de ces défis.

notamment quand la complétude de la base de référence s'améliore après l'étude.

Néanmoins, l'identification morphologique conserve un intérêt élevé, en complémentarité, pour affiner les inventaires et reste indispensable afin de créer les bases de référence génétiques.

1.2.2 De multiples applications potentielles

Les techniques ADNe sont mobilisables dans la perspective de multiples études écologiques : inventaires d'espèces, état écologique d'un milieu en transformant les inventaires d'espèces en note de qualité pour la bio-indication, recherche d'une diversité cryptique ou inconnue (notamment dans le contexte de la diversité microbienne), recherche d'espèces invasives et/ou rares, travail sur les aires de distribution d'espèces notamment pour des questions de conservation, développement d'approches de diversité des réseaux trophiques...

La question de l'utilisation de l'ADNe pour les réseaux de surveillance se pose donc avec acuité.

1.3 Des réseaux d'acteurs travaillant sur l'ADNe

Trois réseaux d'acteurs faisant appel aux approches ADNe sont présentés lors de ce webinaire : DNAqua-Net destiné à favoriser la structuration de réseaux et de collaborations à l'échelle européenne, la plateforme internationale collaborative Vigilife, et le réseau d'observation des communautés microbiennes des écosystèmes côtiers (ROME). Malgré des échelles, des objectifs et des stades d'avancement différents, chacun de ces réseaux entend valoriser le potentiel des méthodes basées sur l'ADNe dans la perspective de suivis.

1.3.1 DNAqua-Net

Réseau de plus de 400 contributeurs en provenance de 39 pays, DNAqua-Net est une *COST action (European Cooperation in Science and Technology)* bénéficiant de financements européens pour la période 2016-2021 : Cf. <https://dnaqua.net>. Son objectif : **établir des ponts entre pays, disciplines et générations pour améliorer la gestion des écosystèmes aquatiques en assurant la promotion des approches basées sur l'ADN.**

C'est donc un large spectre qui a été abordé par le réseau : concept, aspects méthodologiques (échantillonnage, bases de référence, questions concernant la quantification avec l'ADN, nouvelles métriques...), questions liées aux technologies mais aussi aux perceptions (changement de langage, approche moins intuitive), cadre économique et légal (coûts, transferts de connaissance, réponses aux demandes pour la Directive Cadre Stratégie pour le Milieu Marin...).

De nombreuses publications ont été produites, notamment pour étudier comment implémenter ces approches, réfléchir aux points de blocage à lever et aux bonnes pratiques à mettre en œuvre avec les acteurs de la biosurveillance. Un rapport est en accès libre sur les discussions des groupes de travail², parallèlement à un article de synthèse en cours de préparation. En mars 2021, la DNAQUA International Conference a rassemblé 1 500 participants de 79 pays sous forme de webinaire.

Un groupe de travail dédié aux approches moléculaires a également été mis en place au comité européen de normalisation, avec le dépôt d'un standard sur l'échantillonnage de l'eau.

1.3.2 Vigilife

Vigilife est une plateforme internationale collaborative également centrée sur l'ADNe : cf. www.vigilife.org. Cette initiative fait écho aux lacunes en matière de connaissances mises en lumière par l'*Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services (IPBES)* pour apporter des réponses adaptées à l'érosion de la biodiversité.

Fondée par 6 acteurs franco-suisses de la recherche académique, du monde des technologies et des porteurs d'enjeux, l'initiative Vigilife bénéficie de financements de partenaires institutionnels comme l'Office français de la Biodiversité (OFB), les agences de l'eau et l'Agence de la Transition Écologique (ADEME) pour les projets de R&D.

Le réseau est organisé sous la forme d'une alliance internationale de partenaires publics et privés, dont la gouvernance est assurée à deux échelles : au travers d'un Secrétariat jouant le rôle de « moteur de la coopération entre les partenaires » et au niveau des territoires où les partenaires collaborent. Cet « observatoire mondial du vivant » entend travailler à une surveillance de long terme dans les territoires, avec des méthodes standardisées permettant de comparer les données dans l'espace et dans le temps. D'où l'objectif d'**associer les acteurs académiques et technologiques, ainsi que les gestionnaires et porteurs d'enjeux, en s'assurant du transfert des innovations au plus près des acteurs engagés sur des actions concrètes.**

Aussi, Vigilife s'attache à renforcer les programmes de surveillance fondés sur l'ADNe, à partir de publications scientifiques, avec des protocoles testés et validés principalement sur les macro-organismes, les invertébrés et la mégafaune.

» La plateforme a identifié deux programmes de suivi comme priorités dès 2022 : les fleuves sentinelles et les aires marines protégées pour les milieux marins. Des sites pilotes devraient être mis en place.

1.3.3 ROME (Réseau d'Observatoires pour la recherche en Microbiologie Environnementale intégrée)

Basé sur l'ADNe, et s'inscrivant dans la stratégie Ifremer d'une recherche innovante en appui aux politiques publiques, le réseau ROME (<https://www.ifremer.fr/rome>) rassemble une vingtaine de chercheurs et 7 unités de l'Ifremer depuis septembre 2020. L'objectif est l'**analyse de la dynamique des communautés microbiennes à l'interface terre-mer et de leurs interactions** : analyse de la dynamique des micro-organismes toxiques, détection de nouveaux pathogènes et leur cycle de vie, production de nouvelles données en appui aux politiques publiques. La démarche se veut intégrative (analyse de plusieurs compartiments microbiens) et basée sur le concept *One health*, le tout dans une démarche en *open data*.

Actuellement déployé sur 4 sites où l'aquaculture est présente, le réseau assure l'ensemble du processus lié aux méthodes ADNe : prélèvement d'échantillons d'eau tous les 15 jours à l'interface terre-mer et plus au large ; comparaison de ces eaux anthropisées avec les eaux du large ; filtrations séquentielles ; analyse des paramètres biologiques et génétiques par metabarcoding ; analyse des

² Téléchargement : http://dnaqua.net/wp-content/uploads/2020/12/DNAqua-Net-Webinar-Synthesis_2020_v2.pdf

données et biostatistiques en s'appuyant sur le service de bio-informatique de l'Ifremer ; gestion des données avec le système SISMER et publication.

Même si le projet est récent, de premiers résultats ont été obtenus sur 6 mois de données : identification de bactéries d'origine fluviatile (*Burkholderiales*) dans les eaux anthropisées, identification de virus d'huîtres et de virus inconnus dans les échantillons, détection de la présence de parasites de bivalves, mise en évidence de différences entre les eaux anthropisées et les eaux du large pour les protistes.

»» Comment utiliser ces données en appui aux politiques publiques ? La stratégie ADNe appliquée sur les deux types d'eaux apparaissant fructueuse, cela pourrait conduire à définir des indicateurs d'apports fluviatiles à l'interface terre-mer et sur les microbiomes côtiers. D'autre part, la démarche semble pertinente pour répondre à la demande de détection de nouveaux risques microbiens associés à l'aquaculture.

1.3.4 Élaborer un réseau de suivi pour la DCSMM ? Réflexions à partir du suivi des poissons côtiers rocheux

La Directive Cadre Stratégie pour le Milieu Marin (DCSMM) vise l'atteinte et/ou le maintien du bon état écologique des écosystèmes marins d'Europe. Sa mise en œuvre en France métropolitaine va de pair avec l'élaboration d'indicateurs du bon état écologique ainsi que la mise en œuvre de programmes de surveillance³. C'est dans cette perspective que l'ADNe pourrait contribuer à évaluer la biodiversité marine dans son ensemble.

Une réflexion a été lancée au niveau des poissons côtiers de roche : les suivis dans le cadre de la DCSMM pour les poissons côtiers visent à évaluer la diversité biologique, à savoir identifier les espèces, et quantifier leur abondance, leur biomasse et leur spectre de taille pour évaluer l'état écologique du peuplement de poissons. Des focus peuvent également être réalisés sur certaines espèces à enjeu de conservation.

La méthode la plus communément utilisée est le comptage visuel en plongée sous-marine (UVC). Mais si les poissons necto-benthiques sont bien évalués par cette approche, les poissons crypto-benthiques sont certainement sous-estimés en termes de distribution, de densité et de diversité, de même que les poissons pélagiques et benthopélagiques en raison de leur position dans la colonne d'eau et leur importante hétérogénéité spatiale. D'autres méthodes conventionnelles peuvent également être utilisées, telles que les suivis vidéos, l'échosondage, les pêches expérimentales ou les embarquements. Toutes ces méthodes ont leurs biais propres (notamment concernant la sélectivité en espèce) et limites, ce qui les rend complémentaires. Leur utilisation combinée améliore les évaluations de composition et de structure des peuplements de poissons. Néanmoins cette démultiplication de méthodes alourdit et complique les évaluations.

C'est dans ce contexte que l'ADNe a été envisagé afin de d'évaluer plus simplement et plus exhaustivement la diversité ichtyologique (par metabarcoding) et d'estimer l'abondance de certaines espèces (ddPCR).

»» Une étude pilote a fourni une première évaluation du potentiel de l'ADNe comme outil pour la surveillance des poissons côtiers des habitats rocheux. Le metabarcoding sur ADNe apparaît comme un outil complémentaire aux UVC, particulièrement pertinent : il détecte un spectre plus large de diversité de l'ichtyofaune, tout en permettant de décrire des variations spatiales et temporelles à fine échelle spatiale (au sein d'une baie) et temporelle (entre saisons). En termes de surveillance active (i.e., ciblant certaines espèces d'intérêt), la ddPCR sur ADNe s'est révélée être plus sensible que le metabarcoding pour détecter des signaux d'ADNe faibles, illustrant donc son potentiel pour évaluer des espèces à occurrences rares (dont les amphihalins et élasmobranches à statut de conservation) ainsi que des espèces introduites.

³ Pour mémoire, la DCSMM vise une mer saine, propre et productive, avec un bon fonctionnement des écosystèmes marin et des usages durables. Dans ce cadre, le bon état écologique est caractérisé par 11 composantes ou « descripteurs » dont le descripteur 1 portant sur la diversité biologique (nombre et qualité des habitats, distribution et abondance des espèces), le descripteur 2 dédié aux espèces non indigènes (dont le niveau ne doit pas perturber les écosystèmes), le descripteur 3 dédié aux espèces exploitées (les populations doivent se situer dans les

limites de sécurité biologique et présenter une répartition de la population par âge et par taille qui témoigne de la bonne santé du stock), le descripteur 4 concernant le réseau trophique marin (les composants connus de la chaîne alimentaire marine doivent être présents en abondance et diversité normales, et à des niveaux pouvant garantir le maintien complet des capacités reproductives des espèces à long terme). Les autres descripteurs portent sur l'eutrophisation, l'intégrité des fonds marins, les conditions hydrographiques, les contaminants, les questions sanitaires, les déchets marin et le bruit sous-marin.

2 POTENTIEL ET LIMITES DE L'ADNe : APPROCHE PAR GRANDES COMPOSANTES BIOCÉNOTIQUES

Cette session du webinaire s'est attachée à évaluer l'intérêt de l'ADNe en procédant par grandes composantes biocénétiques. En donnant un aperçu du stade d'avancement de plusieurs travaux de recherche, les interventions ont apporté un éclairage sur les résultats obtenus (fiabilité, métriques, enseignements...), les avantages et limites de l'ADNe, ainsi que les problématiques à résoudre.

2.1 Habitats benthiques

Les intervenants présentent des travaux réalisés sur les habitats benthiques en eau douce et mobilisant les approches ADNe, respectivement sur les diatomées, les mollusques et les macro-invertébrés.

2.1.1 Bio-indication des diatomées

Frédéric Rimet (INRAE) rappelle que les diatomées sont des microalgues unicellulaires qui offrent une forte diversité (plus de 10 000 espèces) et sont des bioindicateurs utilisés dans le cadre de la Directive Cadre sur l'Eau pour évaluer la qualité des milieux. Depuis 2000, la méthode conventionnelle est l'identification en microscopie : prélèvement en rivière > traitement de lame > observation au microscope > inventaire > calcul d'indices biotiques dont l'Indice Biologique Diatomées (IBD).

Face aux besoins grandissants en termes de gestion des écosystèmes, l'OFB a souhaité faciliter le processus de calcul de l'IBD en remplaçant l'identification en microscopie par l'identification des espèces par metabarcoding. La facilité d'utilisation de l'identification moléculaire tient au fait que l'identification peut s'affranchir d'une expertise taxonomique longue à construire, mais aussi à la mise à disposition des outils en *open access* et à une tendance à la baisse des coûts par mégabyte produit.

Depuis une dizaine d'années, chacune des étapes de l'approche basée sur l'ADNe fait l'objet de tests et approfondissements qui, pour la plupart, ont débouché sur des publications : identification du mode de préservation le plus performant, choix du kit d'extraction, détermination du marqueur pour la phase d'amplification (choix du rbcL), constitution d'une base de référence en *open access* (Diat.barcode-<https://www6.inrae.fr/carrtel-collection/Barcoding-database>), facteurs de corrections sur les inventaires.

» Les tests réalisés sur 658 sites du réseau métropolitain en 2016, 2017 et 2019 ont montré une **bonne corrélation des résultats avec la microscopie**. Grâce à la complétion de la base Diat.barcode, il est possible d'identifier 90 % des séquences environnementales à l'espèce. Néanmoins, si 91 % des séquences sont assignées en France métropolitaine, cela n'est pas le cas en Guyane et à Mayotte où les bases sont beaucoup moins complètes.

» Les résultats attestent **une comparabilité et une précision supérieures en metabarcoding** : les inventaires obtenus avec l'ADNe présentent une grande homogénéité quels que soient les kits d'extraction utilisés, alors que des différences d'identification se produisent d'un expert à l'autre avec la microscopie.

2.1.2 Travaux sur les mollusques : RETEX

Les bivalves d'eau douce sont de bons bioindicateurs de la qualité des milieux aquatiques. En raison de leur statut préoccupant, ils font l'objet de forts enjeux de conservation pour les espèces patrimoniales ou d'éradication pour les espèces invasives. Les impacts budgétaires sont élevés car les bivalves sont difficiles à détecter visuellement dans leur milieu. Les campagnes (plongées, dragages, analyse de sédiments) doivent impliquer des experts malacologues, très peu nombreux et souvent experts d'une famille en particulier. Elles se heurtent à des problèmes de turbidité, des difficultés d'identification, des déterminations sujettes à caution à partir des coquilles (population vivante ou « fantôme » liée à la dérive de coquilles depuis l'amont ?).

Ce contexte a amené la société SPYGEN et ses partenaires à développer une méthode maintenant standardisée basée sur le metabarcoding. À partir des échantillonnages entre 2015 et 2019, les résultats ont été comparés espèce par espèce avec ceux de l'Inventaire National du Patrimoine Naturel (INPN) sur plus de 302 sites en France.

» La comparaison des résultats avec ceux des méthodes traditionnelles d'inventaires sur 15 sites montre que **la probabilité de détection est augmentée avec l'ADNe** par rapport aux méthodes traditionnelles, surtout pour les espèces difficiles à identifier à l'instar des espèces de la famille des *Sphaeriidae*. En conséquence, la collecte des données dans la base de données de l'INPN est significativement augmentée. Deux exemples sont donnés :

- *Unio crassus* (espèce patrimoniale) : les résultats avec l'ADNe sont cohérents avec l'aire de répartition et l'écologie de l'espèce. Les populations retrouvées par ADNe hors de l'aire de répartition (Dordogne et Rhône) ont ensuite été confirmées par l'observation.
- *Dreissena r. bugensis* (espèce invasive) : présente dans l'Est de la France sur le bassin de la Meuse et de la Moselle. Les résultats ADNe attestent l'expansion de l'espèce vers le Sud de la France.

» **L'ADNe présente un atout indéniable** grâce au gain de coût de prélèvement et en temps d'identification.

L'implication des malacologues, peu nombreux à l'échelle nationale, est alors plus réduite. Ces derniers sont principalement impliqués dans les étapes indispensables de validation écologique des résultats et de la création des bases de référence. Cependant, l'utilisation de l'ADNe ne permet pas une localisation précise de l'espèce sur le transect analysé et les données recueillies ne sont pas quantitatives pour l'instant.

2.1.3 Cas des macro-invertébrés benthiques en rivière

Dans le cadre de la DCE, l'indice invertébré multimétrique (I₂M₂) permet d'évaluer l'état écologique des rivières et ainsi suivre l'impact sur ces milieux des pressions d'origine anthropique pouvant altérer la qualité de l'eau et/ou des habitats.

Comme dans les précédents cas étudiés, l'approche basée sur l'ADNe, couplée au metabarcoding, aurait l'avantage de ne pas être destructrice des habitats, d'être rapide à mettre en œuvre et donc moins coûteuse. Elle pourrait aussi assurer une identification taxonomique plus poussée, car l'identification des invertébrés au niveau de l'espèce sur la base des critères morphologiques est souvent difficile.

Les travaux présentés par Albin Meyer (INRAE) ont été réalisés sur 18 stations en 2014 et 2015, à partir de la norme AFNOR pour le prélèvement des invertébrés. Une base de référence hybride a été constituée pour les taxons observables en France, basée sur les séquences de références obtenues lors du projet et celles issues de la banque publique GenBank®.

»» Outre les recherches quant aux meilleures approches méthodologiques et combinaisons (par exemple dans le choix des marqueurs pour couvrir la diversité taxonomique et phylogénique), il apparaît que **l'approche par metabarcoding discrimine bien les situations impactées des situations de « référence », peu ou pas impactées par les activités humaines** : une « relation positive et significative » existe entre les valeurs d'I₂M₂ obtenues avec l'ADNe et avec les approches traditionnelles.

2.2 Habitats pélagiques

Le projet **INDIGENE**, présenté par Benjamin Alric (Station Biologique de Roscoff), a vocation de tester la pertinence des données de diversité de type metabarcoding pour les compartiments microbiens, eucaryotes et procaryotes, du milieu pélagique pour l'évaluation de l'état écologique et la surveillance des milieux marins.

Le projet se focalise sur le descripteur D1 de diversité biologique qui intègre différentes communautés pélagiques : phytoplancton, zooplancton et gélatineux. Plusieurs indicateurs ont été développés pour les communautés pélagiques : PH1 focalisé sur les groupes fonctionnels ; PH2 pour l'abondance de la biomasse ; PH3 indicateur de diversité (avec 3 métriques retenues : 2 pour décrire les assemblages et 1 pour comparer les assemblages entre eux).

Quand on s'attache aux valeurs des 5 métriques constituant l'indice, les résultats sont corrects pour 4 métriques (*Average Score Per Taxon* - ASPT, polyvoltinisme, ovoviviparité, richesse), moins bons pour le cinquième (indice de Shannon).

2.1.4 Suivi des habitats benthiques des milieux marins : quelles possibilités ?

Les participants, dont notamment un responsable thématique DCSMM D1 Habitats Benthiques, n'identifient à ce jour pas de véritables dispositifs de suivi des habitats benthiques en milieu marin, qui soient axés sur les méthodes d'ADN environnemental. Les projets semblent plutôt ponctuels et peu d'études sont disponibles sur le marin purement benthique, avec un travail plutôt centré sur les bases de référence.

Les échanges amènent néanmoins à reconnaître un intérêt à travailler, dans le cadre de la DCSMM, sur des indices pouvant s'affranchir de l'assignation taxonomique, de façon à ouvrir le spectre de l'analyse de la biodiversité. En effet, s'il est crucial de suivre certaines espèces, on pourrait s'affranchir des assignations taxonomiques quand il s'agit d'analyser les réponses à des gradients de pression. Or, même si des questionnements méthodologiques restent à résoudre, il est déjà possible de calculer des indices de diversité à partir de données moléculaires (*i.e.* sans assignation taxonomique), par exemple en utilisant la diversité en MOTUs (*Molecular Operational Taxonomic Unit*) ou en ASVs (*Amplicon Sequence Variant*) issus directement de l'analyse de la diversité moléculaire des séquences obtenues.

Exemples de possibilités : détecter des macroorganismes sessiles (qui composent l'une des cibles des suivis des habitats benthiques), utiliser les approches de *machine learning* afin de prédire la qualité de l'état écologique le long d'un gradient de pression...

L'étude porte sur 6 sites répartis le long d'un gradient d'eutrophisation. On a des séries temporelles de 1 à 8 ans, des données de metabarcoding pour les eucaryotes et procaryotes, des comptages de phytoplancton et des paramètres environnementaux issus de SOMLIT ou de mesures dans la marina de Brest.

INDIGENE recouvre 3 types d'actions : traitement des données de metabarcoding ; mise en évidence des changements de la diversité de chacun des compartiments microbiens à partir de ces données acquises ; test des 3 indicateurs proposés pour la DCSMM pour le descripteur D1 sur les données de metabarcoding, en comparant les résultats avec ceux obtenus en microscopie.

»» Pour l'indicateur PH3, les premiers résultats sur la période 2012 – 2016 amènent à constater **une variabilité**

intra et inter annuelle des valeurs des 3 métriques décrivant la diversité. Ils attestent **une bonne corrélation entre les données de morphologie et celles de metabarcoding.**

À ce stade, les perspectives sont, d'une part de regarder dans quelle mesure les échantillonnages de metabarcoding pourraient être moins fréquents sans dégrader les relations observées, et d'autre part si les données de metabarcoding

pourraient être utilisées pour calculer les indicateurs PH2 et PH1. À plus long terme, l'enjeu sera d'utiliser d'autres métriques pour mieux évaluer le bon état écologique des habitats côtiers.

À la lumière des projets en cours de développement, l'ADNe semble « plus que prometteur » pour les habitats pélagiques.

2.3 Espèces mobiles

2.3.1 Détection et suivi d'espèces piscicoles en milieu lacustre

Isabelle Domaizon (INRAE) rend compte du développement de l'utilisation de l'ADNe sur les biofilms, le plancton et les poissons en milieu lacustre. Bénéficiant d'un recul de plusieurs années, les protocoles sont orientés pour être opérationnels : inventaires de biodiversité par l'ADN pour les communautés actuelles et passées, comparaisons de l'ADNe avec les méthodes traditionnelles, consolidation des protocoles ADN pour faciliter leur transfert dans la surveillance des lacs.

- Cas des suivis piscicoles sur le lac du Bourget

Des campagnes ADNe ont été réalisées pour compléter les approches traditionnelles jugées à la fois intrusives et lourdes (p. ex. : mobiliser 66 filets benthiques, 12 filets pélagiques sur 5 jours, avec 6-8 personnes).

» Les inventaires réalisés avec l'ADNe apparaissent plus exhaustifs en nombre de taxons, notamment grâce à la possibilité de détecter des signaux rares. En termes d'abondance relative, les résultats sont assez concordants : les espèces dominantes sont bien repérées, même si certaines espèces sont sur représentées.

- Cas de la surveillance de la phénologie de la reproduction de certaines espèces dans le lac Léman

Un focus est présenté sur les travaux centrés sur deux espèces exploitées dans les grands lacs périalpins : la Corégone et la Perche. L'enjeu est d'étudier les effets des pressions anthropiques et climatiques sur les étapes clés du cycle de vie des poissons, en particulier la reproduction et le recrutement : quid des modifications au moment de la ponte, de la durée d'incubation des œufs ?... La démarche a consisté à définir des protocoles adaptés, comparer les résultats ADNe aux données traditionnelles, vérifier la pertinence quantitative de l'information obtenue par ddPCR.

» Les résultats sont jugés très positifs avec l'ADNe : la méthode (ddPCR) permet de déterminer le début, le pic et la fin de la période de reproduction de l'espèce suivie. Les dynamiques temporelles ont en effet été similaires pour l'ADNe et les méthodes traditionnelles (pêche au filet), sur trois hivers de suite. La bonne connaissance de l'écologie de l'espèce et les conditions d'études apparaissent comme des

facteurs déterminants, en plus de l'avantage d'une dispersion du signal moins forte en milieu lentique.

La méthode ADNe va par conséquent être intégrée dans l'observatoire des lacs pour la détection des espèces en raison de ses atouts : coûts très compétitifs, haute sensibilité (détection précoce, signaux faibles), extension de la capacité de surveillance temporelle et spatiale. Les chercheurs relèvent la nécessité d'avancer sur la standardisation des protocoles, le développement des outils (amorces et bases de références) et une meilleure prise en compte des facteurs expliquant la variabilité du signal ADNe. De nouveaux travaux doivent essayer de détecter le signal de l'éclosion des œufs en ciblant l'ARNe.

Les échanges entre participants amènent à penser que les suivis piscicoles sont plus complexes à réaliser sur les rivières, le signal étant plus mouvant. Les paramètres d'échantillonnage semblent déterminants pour capter le bon signal au bon moment. Néanmoins, ce type d'approche est envisagé par le pôle Migrateurs amphihalins (pôle MIAME) sur les fleuves côtiers concernant le saumon, la lamproie et l'anguille. Un calibrage sera réalisé en comparant avec les résultats obtenus là où des comptages de poissons sont disponibles (p. ex. : passes à poissons).

Il est possible de jouer sur la matrice pour récupérer l'ADN : un axe serait de rechercher l'ADN des poissons dans les biofilms pour avoir une matrice intermédiaire entre les sédiments et l'eau.

Autre remarque : le caractère éphémère du signal ADN peut entraîner des problèmes techniques à résoudre mais permet de disposer d'une information temporelle précise.

2.3.2 Surveillance des stocks halieutiques

S'inscrivant dans l'objectif de gestion des pêches, la surveillance des stocks halieutiques vise à évaluer le statut des populations, communautés et socio-écosystèmes marins, en disposant d'indices d'abondance fiables. La collecte des données repose sur des campagnes scientifiques par chalutage et des informations issues des pêcheries. Mais le chalutage scientifique est limité en raison de problèmes d'éthique, de fiabilité insuffisante (cf. espèces rares ou mal capturées), de comparabilité entre les méthodes d'échantillonnage, d'où l'évaluation de l'ADNe pour compléter ou réduire le chalutage scientifique. Différents descripteurs vont pouvoir être obtenus selon la

manière dont on utilise l'ADNe : indices sur la biodiversité et approches semi-quantitatives par metabarcoding et qPCR ; approches plus quantitatives en utilisant la ddPCR ; travail sur la compréhension des phénomènes de dispersion /émission/dégradation de l'ADN par modélisation et expérimentation.

Verena Trenkel (IFREMER) présente les cas d'études réalisés sur 30 sites du golfe de Gascogne en 2019-20 et en 2021, ainsi qu'à la pointe de la Bretagne concernant la Dorade rose, le Merlu et le Bar. **Le nombre d'espèces obtenu par ADNe est supérieur à celui obtenu par chalut.** Pour obtenir un nombre d'espèces comparable par chalutage, il faudrait augmenter la surface de capture jusqu'à 35 km autour des stations. L'ADNe permet de détecter des espèces pélagiques qui ne peuvent pas être capturées par un chalut, y compris les grandes espèces.

Les travaux menés sur ces trois espèces en utilisant la ddPCR ont montré qu'il est possible d'obtenir une bonne résolution spatiale avec l'ADNe : la ddPCR a détecté la présence de la dorade rose sur plusieurs lieux qui correspondent à ceux connus des pêcheurs ; de même, pour le Merlu, une corrélation positive a été obtenue entre l'ADNe et le chalutage. A contrario de l'ADNe, les résultats du chalutage sont sensibles à l'heure de la journée en raison des migrations journalières de ce poisson. Cet exemple illustre l'importance de la biologie de l'espèce pour interpréter/comparer sur les résultats.

» Des études sur la pointe de Bretagne avec metabarcoding ont également visé les dimensions taxonomique, phylogénique et fonctionnelle de la biodiversité, en essayant de mettre en évidence l'effet réserve du Parc naturel marin d'Iroise.

2.3.3 Surveiller les poissons des estuaires aux profondeurs de l'océan

Naiara Rodríguez-Ezpeleta (AZTI) fait état de travaux destinés à surveiller les poissons dans divers habitats, notamment dans les estuaires et habitats pélagiques côtiers et hauturiers.

- Estuaires

» AZTI a utilisé l'ADNe (metabarcoding) pour adapter l'indice AZTI's Fish Index (AFI) qui a pour objectif de définir l'état écologique des estuaires, basé sur la présence de poissons d'estuaire. Traditionnellement, le chalutage démersal est utilisé mais se heurte à plusieurs problèmes : interventions uniquement à marée haute ; influence de certains facteurs (bruit, transparence de l'eau...) sur les captures et les estimations d'abondance ; impact sur l'habitat ; les espèces observées sont conditionnées par la maille du filet ainsi que le type d'habitat accessible pour le chalutage. AZTI a pour cela échantillonné 11 estuaires de la côte basque, à différents endroits pour chaque estuaire. Les résultats montrent que l'état écologique calculé par l'AFI est plus élevé en utilisant l'ADNe, notamment à cause de la plus grande richesse spécifique observée en ADNe. Un travail important de réflexion est en cours afin de mieux cerner

l'ensemble des causes amenant à différentes valeurs de l'indice entre identification morphologique et ADNe.

- Milieux océaniques

L'ADNe a été introduit dans les échantillonnages de la campagne BIOMAN depuis 2017 et cette approche a été comparée au chalut pélagique : les espèces communes aux deux méthodes sont les plus abondantes ; néanmoins, avec l'ADNe, on retrouve 6 fois plus d'espèces. Seulement 8 des espèces trouvées avec le chalut n'ont pas été identifiées (certaines n'étant pas présentes dans la base de référence).

» Une corrélation a été constatée concernant l'abondance. Autre constat, l'ADN n'est pas mélangé dans le milieu pélagique. En effet, quand on s'éloigne de la côte, l'abondance des espèces océaniques augmente et l'abondance des espèces côtières décroît. **On est donc en mesure de trouver des patrons de distribution en échantillonnant avec l'ADNe.**

Concernant l'océan profond, les réflexions ont également porté sur l'utilisation de l'ADNe pour étudier les migrations verticales effectuées par certaines espèces (qui vivent au fond le jour et remontent à la surface la nuit). Les échantillonnages effectués à différentes profondeurs (jusqu'à 2000 m) de jour et de nuit montrent qu'il est possible, avec l'ADNe, de retrouver les migrations verticales, non seulement au niveau des communautés mais aussi au niveau des espèces. On constate que l'abondance et la richesse des espèces d'eau profonde augmentent quand on descend ; les espèces d'eau profonde sont plus abondantes en profondeur de jour et remontent la nuit.

L'ADNe s'avère donc être un outil très prometteur pour explorer l'océan profond. Il convient à cet effet de définir les espèces à cibler.

2.3.4 Détection de mammifères marins par analyse d'ADNe

Jean-Luc Jung (UBO/MNHN/ISYEB) présente les travaux de deux campagnes menées dans le périmètre des aires marines protégées en collaboration avec SPYGEN, en lien avec l'OFB. Menée sur le Parc naturel marin d'Iroise (PNMI) et sur le sanctuaire AGOA en Guadeloupe, la démarche repose sur la mise en œuvre d'un protocole bien établi : prélèvements d'eau de mer (filtration en continu en surface et par transect) et approche metabarcoding suivie d'assignations taxonomiques optimisées des séquences. D'autres campagnes sont en cours d'analyse : campagne An Ba d'Ilo au large de la Martinique et Sanctuaire Pélagos en prévision.

Le travail important sur la constitution d'une base de référence des mammifères marins a permis de couvrir notamment 68 espèces de cétacés, avec un catalogue localement complet, par exemple sur la côte Atlantique française. L'analyse de cette base de référence démontre que les grands groupes taxonomiques sont bien identifiés grâce au marqueur utilisé. Pour la campagne menée sur le PNMI, les assignations taxonomiques ont été réalisées pour

une majorité d'espèces ou familles : Phoque gris, Marsouin commun, Delphinidés, Grand dauphin, avec un taux de détection des Grands dauphins de 100 % (dans tous les prélèvements), ce qui témoigne de leur présence importante dans le parc. Les marsouins sont bien identifiés via l'ADNe alors qu'ils sont difficiles à observer.

Si quelques espèces de *Delphininae* ne sont pas distinguées, il s'agit plutôt d'une problématique globale de taxonomie et

non de l'utilisation d'un marqueur génétique en particulier. En parallèle est réalisé un travail sur la distinction intraspécifique pour certaines espèces, afin d'identifier les écotypes de grands dauphins.

Concernant la mise en œuvre, le protocole de filtration en continu en surface et par transect fonctionne bien pour la détection de mammifères marins en milieu marin.

2.4 Espèces non-indigènes marines

Résultant principalement de la mondialisation des échanges, les espèces non-indigènes (ENI) représentent l'un des moteurs des changements de biodiversité (IPBES) et, par conséquent, une cible des programmes de surveillance. Comment le metabarcoding peut-il venir en appui des programmes de surveillance ? C'est l'objet de la présentation du projet Aquanis2.0, par Frédérique Viard, coordinatrice de ce projet, qui mobilise l'approche ADNe pour identifier les ENI dans les milieux naturels et artificiels, et évaluer les apports et les limites de ces méthodes par rapport à des méthodes traditionnelles (ex. : *Rapid Assessment Survey*).

Le metabarcoding permet effectivement de détecter les ENI marines dans les points chauds d'introduction tels que les ports de plaisance, qui sont les cibles prioritaires des programmes de surveillances, ainsi que dans les milieux naturels. Par exemple, une approche de metabarcoding sur ADNe (eau) utilisant 3 marqueurs et s'appuyant sur une base de référence dédiée a été mise en œuvre dans 10 ports de Bretagne. Une liste d'espèces réellement observées sur le terrain a été établie pour servir de « contrôles positifs ». Ce travail a été réalisé en ciblant 4 classes taxonomiques d'animaux sessiles qui participent au biofouling, et chez lesquelles existent de nombreuses ENI (Ascidiacea, Bivalvia, Gastropoda, Gymnolaemata). Deux tiers des ENI présentes sur le terrain ont été correctement identifiées par metabarcoding. D'autres études menées en milieu naturel ou en utilisant d'autres types d'échantillons ont confirmé ce fort potentiel d'utilisation de l'ADNe pour le suivi des ENI.

»» Outre la facilité de mise en œuvre et le potentiel de standardisation qu'offre l'ADNe, plusieurs points d'intérêt ont été notés :

- **Possibilité de s'affranchir de la disponibilité en expertise taxonomique**
- **Possibilité d'étudier l'échappement en milieu naturel des espèces non-indigènes**

En effet, de nombreuses ENI marines, colonisant les substrats durs des ports, ne sont pas visibles dans les habitats rocheux subtidaux en milieux naturels, ceux-ci étant difficiles à observer par des approches traditionnelles (ex. observations et collectes en plongée).

L'analyse par metabarcoding, qui a pu être réalisée à partir de collecteurs passifs installés dans les milieux naturels et dans les ports, montre que 90 % des 19 ENI et des espèces cryptogéniques identifiées dans le port sont présentes dans au moins un des sites naturels ; ces derniers comptent des ratios ENI/Espèces indigènes similaires à ceux du port.

- **Possibilité de cibler d'autres phases du cycle de vie**, en échantillonnant non pas de l'eau mais des larves (filets à plancton) pour travailler sur les capacités de dispersion et de reproduction des ENI. Le metabarcoding apparaît ainsi également efficace pour appréhender l'efficacité et la saisonnalité de la reproduction des organismes.
- **Possibilité d'une estimation conjointe de la diversité taxonomique et de la diversité génétique** de certaines ENI.

Des optimisations s'avèrent néanmoins nécessaires face à deux types de risques susceptibles d'entraîner des erreurs : d'une part la non-détection d'espèces non-indigènes présentes ou faux négatifs (l'étude des 10 ports a ainsi montré que 6 ENI d'intérêt n'avaient pas été détectées), et d'autre part le risque de faux positifs (i.e., et donc de fausses alertes). Des espèces allochtones identifiées lors de la procédure d'assignation taxinomique se sont révélées être des erreurs d'assignation du fait notamment de lacunes dans les bases de référence. Pour limiter les faux négatifs et faux positifs, une série de solutions existent face à ces risques : approche multi-marqueurs, utilisation d'amorces spécifiques à des espèces/genres/familles d'intérêt, élaboration de bases de données de référence dédiées et moins lacunaires, adaptation du protocole d'échantillonnage à l'objectif de surveillance.

»» Le projet Aquanis2.0 montre ainsi que le metabarcoding est efficace pour la surveillance active des espèces non-indigènes (sur une liste fermée d'espèces) mais doit être encore utilisé avec vigilance pour la surveillance passive (sur des listes ouvertes d'espèces) ; dans ce dernier cas, des approches complémentaires sont nécessaires pour valider les observations notamment suite à l'identification de possibles nouvelles espèces allochtones.

2.5 Perspectives sur les réseaux trophiques

Le Projet LAMINET est présenté par Erwan Quéméré (INRAE). Démarrant en 2022 pour 3 ans, ce projet a l'originalité d'étudier l'ADNe dans les systèmes digestifs des invertébrés et vertébrés associés aux forêts de laminaires. Les interactions trophiques permettent en effet de faire le lien entre la diversité taxonomique, les écosystèmes et leur fonctionnalité pour évaluer leurs services et leur résilience, notamment en lien avec les pressions anthropiques. Il s'agit de définir des indicateurs trophiques du bon état écologique.

Les forêts de laminaires composent un écosystème emblématique du littoral breton qui accueille un cortège d'espèces d'algues, de microfaune et de macrofaune, et représente des ressources importantes pour les pêcheries. Or on assiste à des épisodes de régression de forêts de laminaires à large échelle, résultant d'une conjonction de facteurs biotiques et abiotiques, d'où la nécessité de mieux connaître la structure de ces écosystèmes pour prédire les potentiels dérèglements de la dynamique trophique.

» Étudier les contenus stomacaux permet d'identifier la niche trophique « observée » des espèces et ainsi d'avoir une idée de l'abondance relative des proies. Ici aussi l'ADNe offre une meilleure résolution taxonomique que les méthodes traditionnelles, sans nécessiter d'expertise

taxonomique, dès lors qu'on dispose des bases de référence complétées.

Le volet 1 du projet vise à caractériser le réseau trophique des communautés associées aux forêts de laminaires dans le Parc Naturel Marin d'Iroise et dans la Réserve Naturelle Nationale des Sept-Îles : 20 espèces ont été sélectionnées pour représenter la nature et l'intensité des interactions trophiques entre phoques, oiseaux marins, poissons, invertébrés et algues dans ces deux aires marine protégées. Le volet 2 porte sur l'étude de la variation de la fonctionnalité des forêts de laminaires en lien avec les perturbations anthropiques. Les indicateurs de structure trophique (régime alimentaire d'espèces bio-indicatrices) sont étudiés pour les relier à des informations sur la production secondaire et la biodiversité, notamment l'abondance et la taille des poissons.

Les sites ont été choisis sur des gradients côte-large de turbidité et de pressions anthropiques.

» Un protocole DNAqua-troph d'analyse de contenus stomacaux a été développé, basé sur une approche ADNe multi-marqueurs : **en combinant les différents marqueurs, il est possible d'obtenir un portrait assez complet du régime alimentaire des espèces.** Une importante campagne d'échantillonnage doit commencer.

3 PERSPECTIVES ET SUITES À DONNER

Ce panorama sur utilisation de l'ADN environnemental en milieu aquatique montre que les méthodes basées sur l'ADNe font leurs preuves pour le suivi des différentes biocénoses écosystémiques et ouvrent de nombreuses possibilités en terme de surveillance, même si de nombreuses questions techniques continuent à se poser. Les échanges s'articulent sur ce qu'impliquerait un réseau de surveillance basé sur l'ADNe, avec plusieurs questions sur lesquelles il conviendrait de continuer les travaux en cours ou de se positionner : standardisation de protocoles, bancarisation, acculturation, cahier des charges avec les porteurs d'enjeux...

3.1 Standardisation : trouver le bon équilibre

Comment comparer les données de biodiversité issues de différents laboratoires et/ou différentes stratégies d'échantillonnage (ex., différentes périodes) ? Tel est le défi auquel sont confrontés les chercheurs. C'est l'objet des initiatives de « *best / standardized practices* ».

Les travaux, en particulier ceux bénéficiant d'un certain recul, confirment l'intérêt de la standardisation dans une optique d'opérationnalité, à l'instar du suivi des diatomées pour lequel les efforts de standardisation à l'échelle européenne semblent porter leurs fruits : collaboration avec le réseau européen DNAqua-Net, travail de normalisation européenne (2 protocoles acceptés en 2018, respectivement sur les prélèvements et la base de référence), nouveau *working group* CEN TC 230 sur les méthodes ADN et WG 28.

Même constat pour le suivi des poissons en milieu lacustre pour lequel les protocoles opérationnels ont fait l'objet

d'efforts de standardisation à l'échelle européenne pour les biofilms, le plancton et les poissons.

Outre la réduction des biais méthodologiques, les efforts de standardisation permettent une comparabilité dans le temps. Des guides sont d'ailleurs édités : *A practical guide to DNA-based methods for biodiversity assessment* produit par le réseau DNAqua-Net.

Néanmoins, la standardisation reste complexe à mettre en œuvre, compte tenu de la multiplicité des variables possibles aux différentes étapes des méthodes utilisant l'ADNe. Un consensus s'établit sur le fait qu'il **n'existe pas un protocole parfait mais des protocoles opérationnels, devant être adaptés aux contextes et mis en perspective avec l'objectif du suivi.** C'est pourquoi, les chercheurs soulignent l'importance d'obtenir des retours des gestionnaires, en vue d'une amélioration en continu des méthodes : « *Nous*

sommes très dépendants de l'environnement et des conditions abiotiques. »

Comme pour tout autre type d'étude, les méthodes basées sur l'ADNe ne peuvent s'affranchir d'une connaissance fine de multiples facteurs : le comportement des poissons (d'autant que l'ADNe offre une certaine finesse temporelle et spatiale), les conditions hydrodynamiques et physico-chimiques (pH, matières en suspension, salinité...) qui influencent les modalités de dégradation de l'ADN, les caractéristiques des espèces qui font que les signaux sont plus ou moins bien détectés... À titre d'exemple, certaines espèces relâchent plus d'ADN que d'autres (cas des poissons par rapport aux crustacés).

Plus globalement, tout dépend du type de signal recherché, des méthodes utilisées et de la stratégie de recherche : la

recherche de génomes entiers ou de très grands fragments d'ADN ne sera possible que sur un temps assez court, alors que les fragments plus courts restent plus longtemps dans l'environnement. Interpréter correctement les données ADNe demande donc d'avoir des référentiels permettant de bien interpréter les données (en connaissant par exemple les espèces qui relarguent plus ou moins d'ADN), avec si besoin l'attribution de scores de pénalité.

Au-delà de la standardisation, c'est la question de la formation des laboratoires destinés à mettre en œuvre les méthodes qui se pose, mettant en lumière **des besoins d'accompagnement, de formation, de certification des opérateurs aux protocoles**, pour que les méthodes puissent être déployées dans les milieux marins et d'eau douce. Cette étape doit aller de pair avec les efforts de standardisation.

3.2 Bancarisation

Dans un contexte de surveillance instauré par les politiques publiques, les données doivent être bancarisées, publiques et rendues accessibles, notamment dans le cadre du rapportage européen. Les dispositifs doivent donc prévoir une bancarisation et l'*open access* pour toutes les directives.

Dans le cas de l'ADNe, les problématiques de bancarisation concernent aussi bien les bases de référence, que les données collectées sur le terrain lors d'études et/ou issues des suivis comprenant les séquences ADN et les listes d'espèces détectées après assignation des séquences.

Les interventions ont mis l'accent sur le caractère déterminant des bases de références pour conduire le travail d'assignation taxonomique des séquences et donc d'identification des espèces. Or, les chercheurs s'accordent sur le fait que les bases de données publiques intègrent de nombreuses erreurs dans la correspondance entre la séquence de référence et le nom d'espèce. La mise en place

de bases de données dédiées par rapport à une problématique de surveillance est par conséquent appréhendée comme un prérequis essentiel.

Concernant les données collectées, peut-on envisager une bancarisation et une mutualisation, avec partages de standard, à plus grande échelle ? L'Ifremer rappelle la démarche FAIR⁴ concernant la gestion des données : les données sont ainsi rendues publiques à l'échelle internationale. Tous les observatoires se doivent d'être dans la démarche FAIR, les protocoles étant également concernés.

Il apparaît essentiel d'élaborer une stratégie nationale de bancarisation des données associées aux approches ADNe dans une logique FAIR et adaptée aux politiques publiques, en mobilisant l'aide des différents organismes (INRAE, CNRS, Ifremer, etc.), et en capitalisant sur les initiatives comme le BOLD systems.

3.3 Adaptation des indicateurs

Concernant la bio-indication, une réflexion est à mener pour savoir s'il est préférable de conserver les indicateurs basés sur l'observation d'espèce ou si la bio-indication basée sur la diversité moléculaires (*i.e.* sans assignation taxonomique) aurait du sens dans le cadre des suivis des politiques publiques. Cette seconde option, pour devenir acceptable, demande des efforts d'acculturation.

À titre d'exemple pour le cas des diatomées d'eau douce, la stratégie de développement d'indices ne peut être la même selon les régions, en fonction de la complétude de la base de référence. Ainsi, il est possible d'utiliser des indices

préexistants (développés en microscopie) en métropole quand, dans d'autres régions, comme la Guyane où les bases de référence sont trop pauvres, l'utilisation d'indices *taxonomy-free* basés sur la diversité moléculaire semble la meilleure solution.

Concernant les habitats benthiques, les intervenants s'accordent pour penser que compte tenu de l'ampleur des manques en termes de données et de suivis, l'enjeu est de compléter les indicateurs existants plutôt que de les remplacer : il s'agit d'aller explorer de nouveaux champs avec ces outils moléculaires, pour combler les lacunes.

⁴ Les principes de FAIR data (*Findable, Accessible, Interoperable, Reusable*) recouvrent les manières de construire, stocker,

présenter et publier des données. L'enjeu est que la donnée soit trouvable, accessible, interopérable et réutilisable.

3.4 Coopération avec les gestionnaires porteurs d'enjeux

3.4.1 Adapter les méthodes ADNe aux besoins

« *Tout dépend de l'objectif du suivi* », c'est ainsi que pourrait se résumer nombres de recommandations méthodologiques quant à l'optimisation des protocoles à mettre en œuvre. Pour une même composante biocénotique, les méthodes peuvent varier significativement en fonction de la question écologique posée ou de l'indicateur à renseigner. À titre d'exemple, concernant l'effet des parcs éoliens sur les poissons, l'analyse de « l'effet récif artificiel » résultant de la pose de blocs en béton demande une méthode de prélèvement offrant une résolution spatiale fine autour des blocs ; a contrario, pour l'analyse de « l'effet réserve » sur le parc éolien, c'est tout le périmètre qui est à suivre avec une échelle plus large.

Affiner le besoin de suivi est donc nécessaire pour sélectionner la méthode : quelles sont les cibles (p. ex. : une espèce avec une surveillance active ou l'ensemble d'une communauté ?), les métriques à reporter (occurrence, biomasse, spectre de taille...), la stratégie spatiale et l'échelle d'évaluation, la stratégie temporelle ?... S'intéresse-t-on à des informations liées à la taxonomie ou à la diversité (y compris moléculaire) ? De même, l'objectif d'un suivi de communauté par catégorie d'habitat demande de mettre en œuvre une stratégie de prélèvement d'eau adaptée à l'habitat.

3.4.2 Avancer sur une stratégie de mutualisation ?

La question de la mutualisation se pose dans l'optique d'une utilisation plus large des méthodes basées sur l'ADNe dans le cadre des politiques publiques et par conséquent de réduction des coûts : peut-on mutualiser entre les différentes composantes biocénotiques, quels éléments mutualiser et à quelle étape ?

Des idées de mutualisation pourraient être étudiées au niveau des sites d'échantillonnage dans la logique d'approches écosystémiques, mais aussi des moyens à la mer, ou encore de certaines étapes du workflow ADNe notamment en bio-indication. La problématique s'avère moins une question de faisabilité technique que d'objectifs

en termes de mesure : que veut-on faire des informations, en quoi permettent-elles de répondre aux ambitions ?

À ce stade, les initiatives en eau douce concernent plus le partage de protocoles et de données produites, que la mise en commun d'échantillons.

3.4.3 Définir des cahiers des charges

La standardisation et la mutualisation prenant tout leur sens à la lumière d'objectifs préalablement formalisés, les échanges amènent à proposer d'inverser la réflexion, au travers d'une co-construction entre les scientifiques et les porteurs d'enjeux : **commencer par définir les indices ou les indicateurs requis pour la surveillance et les suivis, pour ensuite définir le protocole ou la méthode standardisée la plus pertinente, et enfin interpréter l'information.**

Dans cette optique, la première étape serait de commencer à « s'approprier » pour créer une culture commune et une connaissance réciproque des outils et des besoins. Cela signifie apprendre à se comprendre, pour parvenir à avoir un échange assez fin sur les problèmes rencontrés. Une telle démarche pourrait se mettre rapidement en place avec l'ADNe, notamment pour les composantes biocénotiques qui aujourd'hui manquent de suivis et d'évaluation.

« *Quand on joue au tennis, il y a un joueur qui démarre un jeu. J'aimerais que ce soient les gestionnaires qui démarrent le jeu, qu'ils soient acteurs.* », souligne un participant. C'est dans ce sens que le réseau d'échanges ADN Eau a été mis en œuvre au sein de l'INRAE, permettant un partage d'informations pragmatique entre techniciens et scientifiques. C'est également l'objet de Vigilife qui entend s'assurer que les demandes des porteurs d'enjeux soient transformées en recherches. L'initiative s'inscrit dans cette dynamique en associant des acteurs académiques et des porteurs d'enjeux, en engageant un dialogue en vue de solutions pertinentes de suivi de la biodiversité.

L'enjeu est de mieux structurer la communauté des scientifiques et des porteurs de projets pour se rapprocher et faire remonter des cahiers des charges à la fois concertés et mutualisés.

4 CONCLUSION

Les multiples cas d'études, quels que soient leurs stades d'avancement, montrent comment l'ADNe étend le champ des possibles. Pour autant, l'enjeu de l'ADNe n'est pas de remplacer les méthodes conventionnelles mais bien de les compléter, en raison même de leurs limites respectives. Les intervenants préconisent de moins chercher à déployer l'ADNe dans les habitats déjà bien suivis par des méthodes conventionnelles que de se focaliser sur les habitats ou des objets peu ou pas suivis actuellement.

Un travail exploratoire et de diagnostic reste à continuer sur chacune des composantes biocénétiques. Les équipes soulignent l'intérêt de continuer à échanger, en raison de problématiques comparables sur les différentes composantes : questions de standardisation de protocoles, de changement d'indicateurs dans le cadre du passage d'un suivi conventionnel à un suivi ADNe, notions de doutes et d'incertitudes à gérer, etc. *« C'est intéressant de garder le contact, d'échanger régulièrement et de partager nos problèmes. »*

Au-delà des questions techniques, la perception des outils basés sur l'ADNe doit évoluer. À cet effet, il convient dans un premier temps d'aller au-devant des gestionnaires pour formaliser les besoins, puis de montrer le potentiel de l'ADNe pour répondre à ces besoins. Il s'agit moins de comparer l'ADNe avec les méthodes traditionnelles, que de mettre en lumière la capacité de l'ADNe à procurer des informations différentes et ouvrir de nouvelles perspectives. L'acculturation des décideurs est une étape clé dans cette perspective. Une appropriation des outils est nécessaire, de même que les problématiques rencontrées sur le terrain doivent rester au cœur des échanges : les retours d'expérience doivent faire partie du transfert de connaissance pour étudier la faisabilité des campagnes ADNe.

Enfin, une stratégie est à élaborer au niveau de la DCSMM. L'enjeu est de mieux structurer la communauté des scientifiques et des porteurs de projets pour faire remonter des cahiers des charges à la fois concertés et mutualisés.

5 ANNEXES

Liste des intervenants

Intervenant	Contributeurs	Milieu	Composante	Intervention
Pierre Thiriet & Anaïs Rey PatriNat	Anaïs Rey (PatriNat), Frédérique Viard (ISEM), Erwan Corre (FR 2424 CNRS SU), Anne Lizé (PatriNat- Station Marine de Dinard), Laurent Leveque (FR 2424 CNRS SU, Station Biologique de Roscoff), Anna Le Joncour (PatriNat), Marine Delesalle (PatriNat), Alexandre Robert (PatriNat-Station Marine de Dinard) et Pierre Thiriet (PatriNat)	-	-	Objectifs du webinaire
Session 1 : Développer des réseaux de surveillance basés sur l'ADNe				
Agnès Bouchez INRAE	Frédéric Rimet & Isabelle Domaizon (INRAE CARTEL) ; Valentin Vasselon (Scimabio Interface)	Aquatique	-	ADN environnemental et suivi des écosystèmes d'eau douce
Arnaud Collin VigiLife		Aquatique et terrestre	-	Vigilife : une plateforme mondiale en faveur de la connaissance, de la surveillance et la protection du vivant grâce à l'innovation technologique de l'ADN environnemental
Raffaele Siano IFREMER		Marin	Communauté microbienne	ROME : un réseau d'observation des communautés microbiennes des écosystèmes côtiers basé sur l'ADNe
Frédérique Viard CNRS (ISEM)		Marin	Espèces non-indigènes	Le metabarcoding comme outil de surveillance des espèces non-indigènes marines
Session 2 : Avancées concernant les habitats benthiques et pélagiques				
Frédéric Rimet INRAE	Agnès Bouchez, Teofana Chonova, Sinziana Rivera (INRAE, USMB, UMR CARTEL) ; Valentin Vasselon (Scimabio interface) ; Kalman Tapolczai (Univ. Pannonia, HU), François Keck (EAWAG, CH), Cécile Chardon, Louis Jacas (INRAE, USMB, UMR CARTEL)	Eau douce	Microalgues benthiques	Diatomées et ADN environnemental, où en sommes-nous ? Développements et exemples
Alice Valentini SPYGEN	Vincent Prié	Eau douce	Mollusques benthiques	ADNe pour le suivi de la biodiversité des mollusques en eau douce
Albin Meyer INRAE	Philippe Usseglio-Polatera, Frédéric Boyer, Alice Valentini, Aurélie Bonin, G. Francesco Ficetola, Jean-Nicolas Beisel, Jonathan Bouquerel, Philippe Wagner, Tony Dejean, Pierre Taberlet	Eau douce	Habitats benthiques	Comparaison des approches morphologiques et par metabarcoding dans l'évaluation de la diversité taxonomique et fonctionnelle des macro-invertébrés benthiques en rivière
Benjamin Alric SBR	Nathalie Simon, Christian Jeanthon, Urania Christaki, Loïs Maignie, Dorothée Vincent, Isabelle Gailhard-Rocher	Marin	Habitats pélagiques	Le développement d'indicateurs dans le cadre de la DCSMM à travers le projet INDIGENE
Session 3 : Avancées concernant les espèces mobiles				
Isabelle Domaizon INRAE	Marine Vautier, Cécile Chardon, Chloé Goulon, Jean Guillard, Personnel technique de l'observatoire des Lacs OLA, Interreg EcoAlpsWater Pôle R&D ECLA (OFB-INRAE-USMB)	Eau douce	Poissons lacustres	Diagnoses écologiques pour l'ADN environnemental : application à la détection des espèces piscicoles en lacs

Verena Trenkel IFREMER	Camille Albouy	Marin	Stocks halieutiques	Application des méthodes ADNe pour la surveillance des stocks halieutiques
Naiara Rodriguez Ezpeleta - AZTI		Marin	Poissons pélagiques	Le potentiel de l'ADN environnemental pour surveiller les poissons des estuaires aux profondeurs de l'océan
Jean-Luc Jung UBO/MNHN/ISYEB	Justine Girardet Tony Dejean, Alice Valentini, Tristan Milhau - Spygen	Marin	Mammifères marins	Détection d'ADN résiduel de mammifères marins dans des échantillons environnementaux d'eau de mer : résultats des campagnes menées en Iroise et dans les Antilles
Session 4 : Perspectives concernant la surveillance des réseaux trophiques				
Erwan Quéméré INRAE	Jean-Charles Leclerc – Station Biologique de Roscoff	Marin	Communautés côtières	L'ADNe digestif pour décrypter la structure et le fonctionnement des communautés associées aux forêts de laminaires

Rédaction du compte rendu ⁵

Infographie sur les méthodes de suivi

⁵ Ce rapport PatriNat résumant le webinaire du 25 novembre 2021 a été rédigé par l'agence MARKEDIA.

MARKEDIA est une agence spécialisée en communication publique et environnementale créée en 2004, qui entend contribuer au développement durable des entreprises et des territoires. L'agence apporte une solide maîtrise des stratégies, dispositifs et outils de communication pensés pour répondre à des problématiques liées à la biodiversité (sur les milieux terrestres, aquatiques et marins), la ressource en eau, la valorisation des déchets et la gestion des risques.

L'agence a développé une expertise en communication pour agir sur la valorisation des recherches, la sensibilisation, la mobilisation et l'engagement des acteurs socio-économiques, des territoires et des citoyens sur les questions environnementales. Située à Cergy, elle intervient sur l'ensemble de la métropole et en outre-mer. MARKEDIA accompagne des établissements publics (OFB, agences de l'eau, Conservatoire du littoral...), des collectivités territoriales et des entreprises en mobilisant des compétences graphiques et rédactionnelles.

En savoir plus : markedia.net

RÉSUMÉ

Ce document constitue la synthèse des échanges qui ont eu lieu lors de l'atelier ADN environnemental du 25 novembre 2021 organisé par PatriNat qui a regroupé 50 personnes et dont le but était d'identifier le potentiel des méthodes basées sur l'ADN environnemental (ADNe) pour élaborer une stratégie de suivi optimisée pour le milieu marin.

Les participants ont pu échanger sur le potentiel et les limites de ces techniques pour le suivi des espèces et habitats en eaux continentales, eaux de transition ou en mer.

Avant de pouvoir arriver à une stratégie opérationnelle de suivi par ADNe du milieu marin, il serait nécessaire de poursuivre le développement de protocoles adaptés aux besoins de surveillance des gestionnaires, puis de travailler à la standardisation des méthodes et de leur mise en œuvre.

Il sera également nécessaire de disposer de bases de données de référence les plus complètes possibles et exactes pour l'assignation taxinomique des séquences puis d'élaborer une stratégie nationale de bancarisation des (meta)données issues de l'analyse d'ADNe dans une logique FAIR.

Pour répondre aux besoins des politiques publiques, l'analyse des données issues des méthodes ADNe pose la question d'une adaptation des indicateurs existants basés sur les méthodes traditionnelles d'identification des espèces. Il sera plus efficace de développer en priorité des indicateurs spécifiques aux méthodes ADNe pour les espèces et habitats qui ne disposent pas encore d'indicateurs.

Pour définir une stratégie de surveillance et d'évaluation du milieu marin, il paraît nécessaire de commencer par spécifier les questions et besoins précis des gestionnaires pour que les scientifiques puissent ensuite proposer des protocoles et indices qui pourront ainsi mutualiser au mieux les méthodes d'échantillonnage ou d'analyse en s'appuyant sur la complémentarité entre les différentes techniques de suivi.

En ce sens, les réseaux d'échanges qui visent à structurer la communauté des scientifiques et des porteurs d'enjeux ont un rôle important à jouer.



PatriNat (OFB-CNRS-MNHN)

Centre d'expertise et de données sur le patrimoine naturel

Muséum national d'Histoire naturelle

CP41 – 36 rue Geoffroy Saint-Hilaire

75005 Paris

www.patrinat.fr