



HAL
open science

Zoom sur l'ADN environnemental - Synthèse du document "Intérêts et enjeux de l'utilisation de l'ADN environnemental pour l'inventaire, le suivi et la surveillance de la biodiversité des milieux dulcicoles, marins et terrestres"

Aurélie Lacoeylle, Katia Hérard, Laurent Poncet, Julien Touroult

► **To cite this version:**

Aurélie Lacoeylle, Katia Hérard, Laurent Poncet, Julien Touroult. Zoom sur l'ADN environnemental - Synthèse du document "Intérêts et enjeux de l'utilisation de l'ADN environnemental pour l'inventaire, le suivi et la surveillance de la biodiversité des milieux dulcicoles, marins et terrestres". PatriNat (OFB-MNHN-CNRS-IRD). 2024, pp.4. hal-04561189

HAL Id: hal-04561189

<https://hal.science/hal-04561189>

Submitted on 21 May 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

L'ADN ENVIRONNEMENTAL (ADNe)

Ce document est une synthèse de : LACOEUILHE A., HERARD K., PONCET L., TOUROULT J., (coord.) 2024. Intérêts et enjeux de l'utilisation de l'ADN environnemental pour l'inventaire, le suivi et la surveillance de la biodiversité des milieux dulcicoles, marins et terrestres. *PatriNat (OFB-MNHN-CNRS-IRD), Paris. 52 p. <https://hal.science/hal-04561160>*

1. QU'EST-CE QUE L'ADN ENVIRONNEMENTAL ?

L'ADN environnemental, ou ADNe, correspond à l'ADN extrait à partir d'échantillons environnementaux – comme l'eau, les sols, les sédiments, l'air, la végétation ou les fèces – sans avoir besoin d'isoler les organismes au préalable¹.

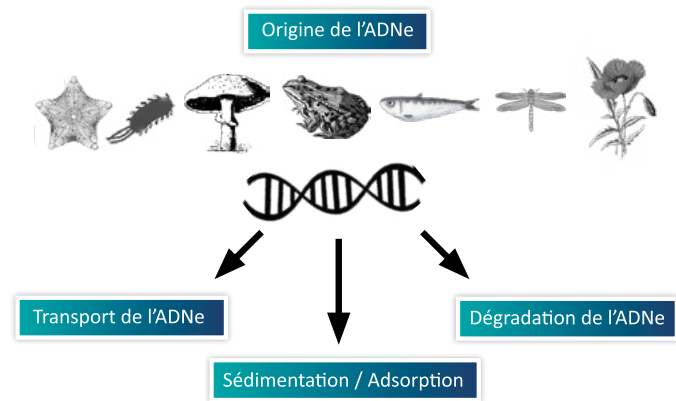
Écologie de l'ADNe

La quantité des molécules d'ADN est variable en fonction des espèces et évolue en fonction des conditions du milieu. L'ADN peut être dégradé par différents facteurs biotiques (bactéries, champignons, enzymes, etc.) et abiotiques (radiations UV, acidité, température, etc.) ou persister dans le milieu en étant adsorbé sur des particules organiques ou inorganiques. Ces processus constituent ce qu'on appelle l'« écologie de l'ADNe »².



L'ADNe peut être extrait depuis l'eau, les sols, les sédiments, l'air ou les fèces

↓ Figure 3 : Diagramme schématique simplifié de l'écologie de l'ADNe³



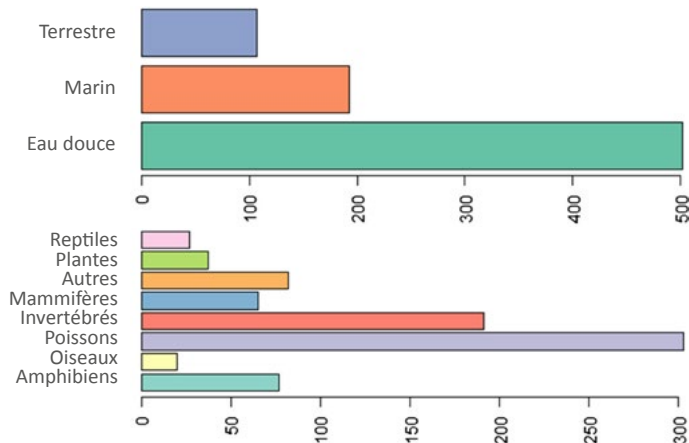
Deux approches possibles pour l'identification des espèces à partir d'ADNe

- **Approche spécifique**, par **barcoding de l'ADNe** lorsqu'une seule espèce cible est recherchée.
- **Approche multispécifique** par **metabarcoding de l'ADNe**, lorsque plusieurs espèces sont recherchées en même temps.

L'approche spécifique de l'ADNe est à distinguer du barcoding réalisé directement sur des tissus ou des spécimens. Pour le metabarcoding à partir d'un mélange de plusieurs espèces issues d'un dispositif de piégeage, on parlera plutôt d'« ADN massif » et non d'ADNe.

Une recherche récente en plein essor

- 1987 : première étude qui pose le nom « ADNe »⁴ mais le principe existe depuis plus longtemps et est utilisé pour l'étude des micro-organismes.
 - 2008 : première fois où l'ADNe est utilisé pour détecter des vertébrés⁵.
 - 2012 : première revue de littérature¹
- Depuis le nombre annuel de publications ne cesse d'augmenter mais des différences s'observent en fonction des milieux et des groupes taxinomiques étudiés.



Nombre d'études utilisant l'ADNe à partir d'une recherche documentaire avec les mots « environmental DNA » ou « eDNA » pour la période comprise entre le 1^{er} janvier 2008 et le 31 décembre 2019 selon l'écosystème étudié (en haut) et le groupe d'organismes étudiés (en bas)⁶

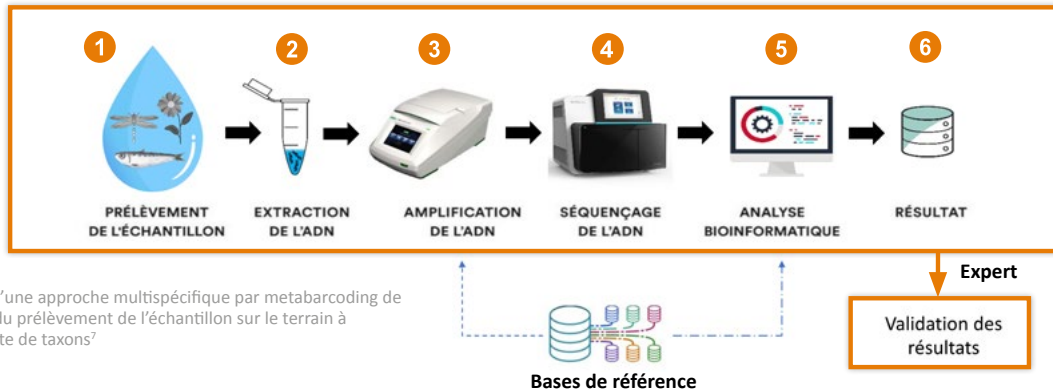
2. CONSIDÉRATIONS TECHNIQUES, MÉTHODES ET PROTOCOLES

Du terrain à l'identification des espèces : les différentes étapes

Avec l'augmentation des publications, une diversification des méthodes apparaît. Différentes techniques peuvent être utilisées en fonction du milieu étudié et pour un même milieu. Exemple simplifié, dans le cas d'une approche multispécifique dans l'eau :

- 1 un échantillon est prélevé sur le terrain,
- 2 l'ADN est extrait,
- 3 puis amplifié grâce à une PCR,

- 4 puis séquencé grâce à un séquenceur qui traduit l'information génétique en texte (chaque lettre représente un nucléotide),
- 5 le résultat issu du séquenceur est ensuite analysé grâce à des logiciels de bioinformatique,
- 6 pour permettre d'associer à chaque échantillon des noms de taxons, en s'appuyant sur des bases de référence, et le nombre de séquences d'ADN associées.



Principales étapes d'une approche multispécifique par metabarcoding de l'ADNe dans l'eau : du prélèvement de l'échantillon sur le terrain à l'obtention d'une liste de taxons⁷

L'étape de **bioinformatique** peut aussi être réalisée sans l'utilisation d'une base de référence (flèche vers 5).

La **profondeur de séquençage** (4) correspond au nombre de séquences totales pouvant être lues par échantillon. Plus la profondeur de séquençage est importante plus on peut espérer trouver de l'ADN peu abondant dans l'échantillon.

Protocoles et stratégies d'échantillonnage sur le terrain

Les protocoles sont à adapter en fonction du type de milieu et des objectifs visés. Dans une logique d'inventaire, le protocole d'échantillonnage doit être le plus **représentatif** de l'ensemble de la zone étudiée. La **stratégie d'échantillonnage**, le nombre de points de prélèvement, le **volume d'eau** ou la **quantité de sol**

prélevé font partie des éléments importants à prendre en compte. Pour optimiser la stratégie d'échantillonnage, il est préférable de connaître l'**écologie de l'ADNe** et d'organiser les prélèvements en fonction de l'**activité des espèces ciblées** (ex. reproduction, émergence des larves, etc.).

Techniques et méthodes de laboratoire

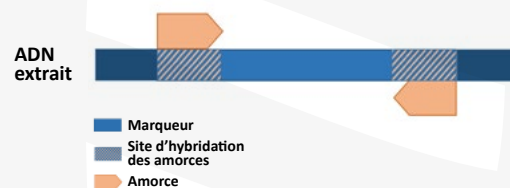
Procédures des laboratoires d'analyse

Afin d'éviter les contaminations, des dispositifs particuliers sont mis en place (ex. pressions différentielles, sens de circulation entre les salles (marche en avant), équipement du personnel (gants, charlotte, masque à usage unique), etc.).



Marqueurs et couples d'amorces

Les marqueurs correspondent aux régions spécifiques et connues de l'ADN ayant une localisation précise dans le génome (ex. un gène) et participent au processus d'assignation taxinomique. Les amorces sont de courtes séquences synthétiques d'ADN qui permettent de cibler un marqueur et d'initier l'amplification.



Représentation schématique d'un couple d'amorces au niveau d'un marqueur, comprenant le site d'hybridation, sur un fragment d'ADN⁸

Amplification de l'ADN

Amplification dans le cas de l'approche multispécifique par metabarcoding de l'ADNe

Les molécules d'ADN sont amplifiées lors de la **PCR** (« **Polymerase Chain Reaction** »), qui repose sur le processus de répllication des molécules d'ADN). Des facteurs importants de cette étape de PCR sont le **nombre de réplias par échantillon**, le **nombre de cycles PCR**, et l'utilisation de tags en vue du séquençage.

Amplification dans le cas de l'approche spécifique et quantification relative

PCR conventionnelle	PCR quantitative (qPCR) et PCR digitale (dPCR ou ddPCR)
si l'amplification se réalise, cela atteste de la présence de l'espèce recherchée.	permettent de quantifier l'ADN de l'espèce cible présent dans l'échantillon

Bases de référence

La qualité des données issues d'ADNe repose notamment sur la qualité des bases de référence utilisées. Il existe de nombreuses bases publiques internationales (ex. GenBank, European Nucleotide Archive (ENA), le Barcode of Life Datasystem (BOLD) etc.).

Lors de la production d'une nouvelle séquence de référence, l'intervention d'experts, particulièrement de taxinomistes et de naturalistes, est indispensable pour garantir sa qualité.

En s'appuyant sur les bases publiques et initiatives existantes, le développement d'une base de référence pour la France est nécessaire. Il est en effet préférable de disposer de séquences :

- rattachées à un spécimen en collection permettant de réviser l'assignation taxinomique,
- issues de spécimens provenant de localités différentes pour tenir compte de la variabilité génétique intraspécifique.

Disposer par espèce de plusieurs séquences de référence issues de spécimens différents constitue un enjeu majeur pour la qualité et l'exhaustivité de la base de référence.

Interprétation des résultats

- Se concentrer sur la réduction des erreurs pour améliorer la qualité des résultats.
- Garder à l'esprit que chaque étape peut :
 - générer beaucoup de variabilité (enjeu pour la comparaison de données),
 - générer des biais pouvant influencer les résultats.

- Poursuivre le développement de nouveaux marqueurs et d'amorces plus résolutifs pour les taxons à enjeux.
- Stocker les échantillons et les données issues d'ADNe afin de pouvoir les réanalyser à la lumière de l'évolution des techniques moléculaires, de l'amélioration des bases de référence et de l'avancée des connaissances.
- Se faire accompagner par un écologue en amont des projets pour optimiser le protocole d'échantillonnage et en aval pour aider à interpréter les résultats.

3. INTÉRÊTS, LIMITES ACTUELLES ET ENJEUX À TRAVERS LES MULTIPLES APPLICATIONS DE L'UTILISATION DE L'ADNe

Intérêts et avantages de l'ADNe	Limites de l'utilisation de l'ADNe et points de vigilance
<ul style="list-style-type: none"> - détection de tout le vivant, des microorganismes aux grands vertébrés, à partir d'un même échantillon - caractère non invasif pour les espèces - détection des espèces rares, en très faible densité localement ou de petites tailles ou pour lesquelles la détection ou l'identification par des méthodes traditionnelles peut être difficile, couteuse, laborieuse ou invasive - détecter les espèces quel que soit leur stade de vie - possibilité de détecter, par metabarcoding de l'ADNe, un nombre d'espèces identique voire supérieur à celui obtenu par les méthodes « traditionnelles »¹ - économie des efforts et réduction des coûts d'échantillonnage sur le terrain, particulièrement dans le cas des espèces dont la détection est limitée² 	<ul style="list-style-type: none"> - bases de séquences incomplètes ou erronées qui limitent l'assignation taxinomique - localisation spatiale et temporelle imprécise des espèces - abondance ou biomasse des espèces imprécise - choix important pour éviter toute contamination génétique : stratégie d'échantillonnage, le nombre et localisation des points de prélèvement - risque d'obtenir des faux positifs et des faux négatifs - impact environnemental non négligeable (ex. matériel à usage unique) - méthodes et techniques de laboratoire variables et non standardisées
<p>L'approche par ADNe est une méthode qui peut être utilisée pour l'inventaire et le suivi de nombreux groupes taxinomiques dans tous les milieux. Elle est de plus en plus utilisée dans les milieux d'eau douce et marins. Elle est particulièrement prometteuse pour les sols.</p>	<p>Certaines de ces limites peuvent être surmontées, d'autres semblent inhérentes à l'approche par ADNe. Il s'agit donc d'évaluer soigneusement leurs effets sur les résultats notamment pour choisir éventuellement une autre approche plus adaptée à l'objectif fixé.</p>

Exemples et enjeux de l'utilisation de l'ADNe dans les milieux dulcicoles pour étudier :

- les **dynamiques saisonnières et spatiales** des communautés de poissons d'eau douce. Le signal spatial recueilli à partir de l'ADNe semble **comparable** à celui recueilli avec des **méthodes fondées sur la capture**,
- les **espèces exotiques envahissantes**,
- les **espèces patrimoniales**,
- les **parasites** et les agents **pathogènes** notamment des amphibiens, des poissons et des écrevisses.

Cette approche fournit ainsi un moyen **prometteur et puissant** sur lequel fonder les futurs efforts de biosurveillance et d'évaluation des espèces et aussi pour la recherche et la **conservation des écosystèmes aquatiques** et d'autant plus dans les écosystèmes encore très riches en biodiversité comme dans les Outre-mer.

Exemples et enjeux de l'utilisation de l'ADNe dans les milieux marins pour :

- étudier les **assemblages d'espèces**,
- estimer la **répartition spatio-temporelle** d'espèces en danger ou menacées, et permettre la redécouverte de certaines espèces,
- **détecter précocement les espèces non indigènes (ENI)**,
- développer des **indicateurs** fondés sur les caractéristiques des poissons, la phylogénie et la vulnérabilité à la pêche et comparer des milieux soumis à différents **modes de gestion** par exemple entre des zones classées en réserve et hors réserve,
- **évaluer la biomasse** et les populations de poissons afin de faciliter les **évaluations de stocks**, essentielles pour éclairer les décisions en matière de gestion durable des pêches, notamment en développant des **tests spécifiques (ex. par qPCR)** pour certaines espèces économiquement importantes.

4. PERSPECTIVES DE RECHERCHE

L'étude de l'ADNe gagne en maturité mais la recherche encore en plein essor offre de nombreuses perspectives comme par exemple :

- Détection de **nouveaux taxons** par le développement de nouveaux marqueurs et les **approches « sans taxinomie »**, c'est-à-dire sans nommer les taxons,
- **Approche quantitative** qui offre des relations positives entre les concentrations d'ADNe et l'abondance et/ou la biomasse de certains groupes taxinomiques,

Exemples et enjeux de l'utilisation de l'ADNe dans les milieux terrestres pour étudier :

- les **communautés de mammifères** à travers les fleuves et les cours d'eau,
- les **plantes** : à partir d'une partie de la plante, d'ADN ancien, d'ADN provenant de sols ou de sédiments ou à **partir du miel** permettant de **connaître les ressources florales disponibles** pour les abeilles,
- les **invertébrés** :
 - à partir de **traces** (poils, excréments etc.) **laissées par les abeilles sur les fleurs** butinées,
 - les **vers de terre**,
- les **groupes peu connus** (ex. **Nématodes et Acariens** de la faune des sols) : potentiel de déploiement,
- les **réseaux multitrophiques** des sols dans différents habitats.

Les experts consultés insistent sur la **complémentarité** des approches traditionnelles et de l'étude de l'ADNe.

Ils ajoutent que l'ADNe, couplé aux méthodes traditionnelles, a toute sa place dans la stratégie et la politique de surveillance en France. Il y a un besoin important de mettre en place rapidement des formations à destination des gestionnaires afin de mettre en place un réseau de surveillance en routine.

- Exploration de **nouveaux milieux** : l'air, les grottes, les milieux souterrains et les profondeurs de l'océan,
- Utilisation de l'**ARN environnemental (ARNe)** qui pourrait offrir une vision plus instantanée des espèces présentes,
- ADNe en complément et/ou associé à d'autres **technologies** comme l'échosondage, l'utilisation de drones, l'hydroacoustique, des capteurs y compris des systèmes portables, distants et autonomes, etc.,
- Réduction de la consommation des ressources énergétiques et développement de filières de recyclage pour le matériel.

BIBLIOGRAPHIE

1. Taberlet, P., Coissac, E., Hajibabaei, M. & Rieseberg, L. H. 2012. Environmental DNA. *Molecular Ecology*, 21(8), 1789-1793. <http://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05542.x>
2. Barnes, M. A. & Turner, C. R. 2016. The ecology of environmental DNA and implications for conservation genetics. *Conservation Genetics*, 17(1), 1-17. <http://doi.org/10.1007/s10592-015-0775-4>
3. © Lacoecilhe A. et Pixabay, d'après Barnes & Turner, 2016 et Wang *et al.*, 2021) avec Wang, S., Yan, Z., Hänfling, B., Zheng, X., Wang, P., Fan, J. & Li, J. 2021. Methodology of fish eDNA and its applications in ecology and environment. *Science of The Total Environment*, 755, 142622. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142622>
4. Ogram, A., Sayler, G. S. & Barkay, T. 1987. The extraction and purification of microbial DNA from sediments. *Journal of Microbiological Methods*, 7(2), 57-66. [http://doi.org/10.1016/0167-7012\(87\)90025-X](http://doi.org/10.1016/0167-7012(87)90025-X)
5. Ficetola, G. F., Miaud, C., Pompanon, F. & Taberlet, P. 2008. Species detection using environmental DNA from water samples | *Biology Letters*. *Biological Letters*, 4. Consulté à l'adresse <https://royalsocietypublishing.org/doi/full/10.1098/rsbl.2008.0118>
6. D'après Beng, K. C. & Corlett, R. T. 2020. Applications of environmental DNA (eDNA) in ecology and conservation: opportunities, challenges and prospects. *Biodiversity and Conservation*, 29(7), 2089-2121.

Copyright des photos : photo 1 ©A. Lacoecilhe, photo 2 ©Spygen, photo 3 ©Pixabay - Sources des illustrations : 7 ©A. Lacoecilhe et Pixabay 8. ©A. Lacoecilhe.

Citation recommandée : LACOEUILHE A., HERARD K., PONCET L., TOUROULT J., (coord.) 2024. Zoom sur l'ADN environnemental - Synthèse du document : "Intérêts et enjeux de l'utilisation de l'ADN environnemental pour l'inventaire, le suivi et la surveillance de la biodiversité des milieux dulcicoles, marins et terrestres". PatriNat (OFB-MNHN-CNRS-IRD), Paris. 4p. <https://hal.science/hal-04561189>

PatriNat
Centre d'expertise et de données
sur le patrimoine naturel
CP41, 36, rue Geoffroy Saint-Hilaire
75005 Paris
patrinat.fr

