Résultats d'un programme de recherche des Amphibiens par la méthode de collecte d'ADN-environnemental (ADNe) mené de 2019 à 2021 sur le bassin Artois-Picardie

Par Sébastien LEGRIS

Résumé

Cette étude présente les résultats issus de 60 prélèvements « Metabarcoding ADNe » utilisés dans la recherche des amphibiens sur le bassin Artois-Picardie entre 2019 et 2021 sur 51 communes. Les échantillons ont été utilisés dans le cadre de divers projets d'étude menés par 7 structures. 12 taxons ont été détectés, dont 5 présentent un certain degré de menace, de « Quasi-menacé » à « Vulnérable » à l'échelle des 2 ex-régions et/ou nationale.

Le Triton crêté *Triturus cristatus* est l'espèce la plus remarquable, notamment par son intérêt européen. Généralement entre 2 et 4 taxons ont été détectés par site échantillonné, avec un maximum de 6 taxons.

Dans le cadre de ce projet, des tests de comparaison avec des méthodes dites « traditionnelles » ont montré que la méthode ADNe permettait de récolter près du double de données de présence d'espèces. La méthode est particulièrement intéressante pour améliorer les connaissances sur la répartition des tritons et de certaines espèces comme la Grenouille rieuse *Pelophylax ridibundus*. Elle représente également un bon outil de veille pour certaines espèces à enjeux (ex : Grenouille des champs *Rana arvalis*) ou problématiques. (ex : Xénope lisse *Xenopus laevis*).

Mots clés : ADN-environnemental, amphibiens

English title : Amphibian research program using the environmental DNA collection method carried out from 2019 to 2021 in the Artois-Picardie basin.

Abstract

This study presents the results of 60 « DNA-e Metabarcoding » samples used in amphibian research in the Artois-Picardie watershed between 2019 and 2021 in 51 municipalities. The samples were used in various study projects carried out by 7 structures. 12 taxa were detected, 5 of which present a certain degree of threat, from « Near Threatened » to « Vulnerable » at the scale of the 2 former regions and/or nationally.The Great Crested (Triturus cristatus) Newt is the most remarkable species, particularly because of its European interest. Generally between 2 and 4 taxa were detected per sampled site, with a maximum of 6 taxa. As part of this project, comparison tests with so-called « traditional » methods have shown that the eDNA method can collect almost twice as much additional data on the presence of species. The method is particularly interesting to improve knowledge on the distribution of newts and certain species such as the Marsh Frog *Pelophylax ridibundus*. It is also a good monitoring tool for certain species with environmenta issues (e.g. Moor Frog *Rana arvalis*) or problematics. (e.g. African clawed toad *Xenopus laevis*).

Keywords : DNA-environmental, amphibians

Introduction

Ce projet animé par Picardie Nature sur une période de trois ans (2019-2021) a été réalisé grâce au soutien financier principal de l'Agence de l'eau Artois-Picardie.

Il revêt plusieurs objectifs :

- tester l'efficacité de la méthode ADNe (Acide Désoxyribo Nucléique environnemental) en la comparant à des méthodes dites « traditionnelles ».
- améliorer les connaissances globales sur la répartition des différents espèces d'amphibiens présentes dans le Bassin Artois Picardie.
- apporter des compléments d'inventaires dans le cadre de divers projets spécifiques menés par Picardie Nature et les partenaires associés

L'étude a été conduite en lien avec le laboratoire SPYGEN qui a assuré la fourniture du matériel, la formation des techniciens, l'analyse des prélèvements et la transmission des résultats.

La méthode utilisée dite « Metabarcoding ADNe », permet de déceler l'ensemble des espèces d'un groupe cible. Elle rend ainsi possible la détection de toutes les espèces d'amphibiens présentes dans les Hauts-de-France, hormis certains taxons associés au complexe des grenouilles vertes *Lessona : Pelophylax sp.*

60 échantillonnages ont été réalisés sur divers points d'eau, principalement des mares. Ils ont consisté pour chaque site à réaliser 20 prélèvements d'eau, filtrés grâce à l'utilisation d'une capsule. Après chaque campagne de prélèvements, 3 mois ont été nécessaires au laboratoire SPYGEN pour en assurer l'analyse.

Plusieurs partenaires ont été associés au projet :

- Somme-Nature,
- le Centre Permanent d'Initiatives pour l'Environnement des pays de l'Aisne (CPIE 02),
- le Conservatoire d'espaces naturels des Hauts-de-France (CEN HdF),
- le Parc Naturel Régional Baie de Somme - Picardie maritime (PNR BdS-PM),
- le Syndicat Mixte Baie de Somme - Grand Littoral Picard
- le Groupe Ornithologique et Naturaliste du Nord-Pas -de-Calais (GON).

Un rapport détaillé a été produit à l'issu de cette étude (LEGRIS S., 2022).

Matériel et méthode

Les avantages et limites de la méthode

La méthode a été testée sur les amphibiens depuis une dizaine d'années, au cours desquelles son efficacité a été démontrée. Pour exemple, une étude menée en 2013 par le bureau d'études Ecosphère portant sur 40 mares de la Vienne et la Haute-Vienne, a montré que 90% des espèces connues historiquement étaient détectées par l'ADNe, contre 60% avec les protocoles d'observations classiques, avec en supplément la détection d'espèces non connues des inventaires précédents (ACQUEBERGE M., 2013).

En revanche, la durée de vie de l'ADNe dans le milieu aquatique est estimée au maximum à 3 semaines et dépend de divers facteurs comme la température, l'acidité de l'eau ou l'exposition aux UV (JEAN P., 2013). Les prélèvements doivent donc être réalisés durant la période la plus propice qui correspond à la reproduction (avril à juin) avec une grande quantité d'ADN libéré dans l'environnement par l'intermédiaire de fèces, d'urine, de gamètes, de mucus, de peau… ou encore par la décomposition d'individus morts.

L'étude de l'ADNe ne permet pas d'estimer la taille d'une population, d'obtenir des informations sur les individus (taille, âge, sexe, stade de développement, etc.), de différencier les hybrides et nécessite de compléter les bases de données génétiques de référence pour l'ensemble des groupes taxonomiques.

Une information semi-quantitative est cependant disponible grâce à deux éléments fournis lors des résultats d'analyse :

- le nombre de réplicats (12 réplicats expérimentaux réalisés en laboratoire),
- le nombre de séquences amplifiées.

Cette information semi-quantitative n'a pas été exploitée dans l'analyse des résultats de la présente étude. Les premières recherches menées sur les amphibiens (POULET N. & BASILICO L., 2019), mettent en évidence un accroissement sensible de la quantité d'ADN dans les échantillons en fonction du nombre d'individus présents, mais cette relation reste encore trop fragile pour être pleinement exploitée.

Lors de la restitution des résultats ADNe deux risques d'erreurs sont possibles :

- les Faux positifs : espèces détectées alors qu'elles ne sont pas présentes dans le milieu échantillonné. Cela peut être lié à une non-spécificité des amorces utilisées pour l'amplification, une contamination sur le terrain, une contamination en laboratoire ou une base de référence erronée ;

- les Faux négatifs : espèces non détectées alors qu'elles sont présentes dans le milieu échantillonné. Cela peut être lié à des amorces non adaptées, un échantillonnage non optimal, une présence d'inhibiteurs de PCR, une quantité insuffisante d'ADN de l'espèce cible (ou du groupe cible), une base de référence incomplète.

Le déroulement des échantillonnages sur le terrain

Une formation animée par SPYGEN a été réalisée auprès des participants à l'étude, afin de se familiariser aux techniques de prélèvements de l'ADNe sur le terrain.

Les prélèvements doivent être réalisés depuis la berge afin d'éviter toute contamination croisée entre les sites étudiés et l'introduction de pathogènes ou d'espèces exotiques envahissantes dans le milieu. Pour les points d'échantillonnage difficilement accessibles, une perche télescopique munie d'une protection stérile peut être utilisée (SPYGEN, 2019).



Photo 1 : prélèvement d'eau - © Odile PLATEAUX

Les prélèvements nécessitent un certain nombre de précautions (ARNAL et al., 2020) comme l'utilisation de gants stériles pour éviter toutes contaminations.

Pour chaque point d'eau échantillonné, 20 prélèvements sont réalisés à l'aide d'une louche, à divers endroits du site. L'eau est ensuite filtrée dans une capsule de filtration, en respectant le sens d'écoulement. Le conditionnement de la capsule est assuré en versant une solution tampon de conservation qui fixe l'ADN. Les capsules sont ensuite envoyées au laboratoire SPYGEN pour analyse génétique. Le délai de traitement classique est d'environ 3 mois.



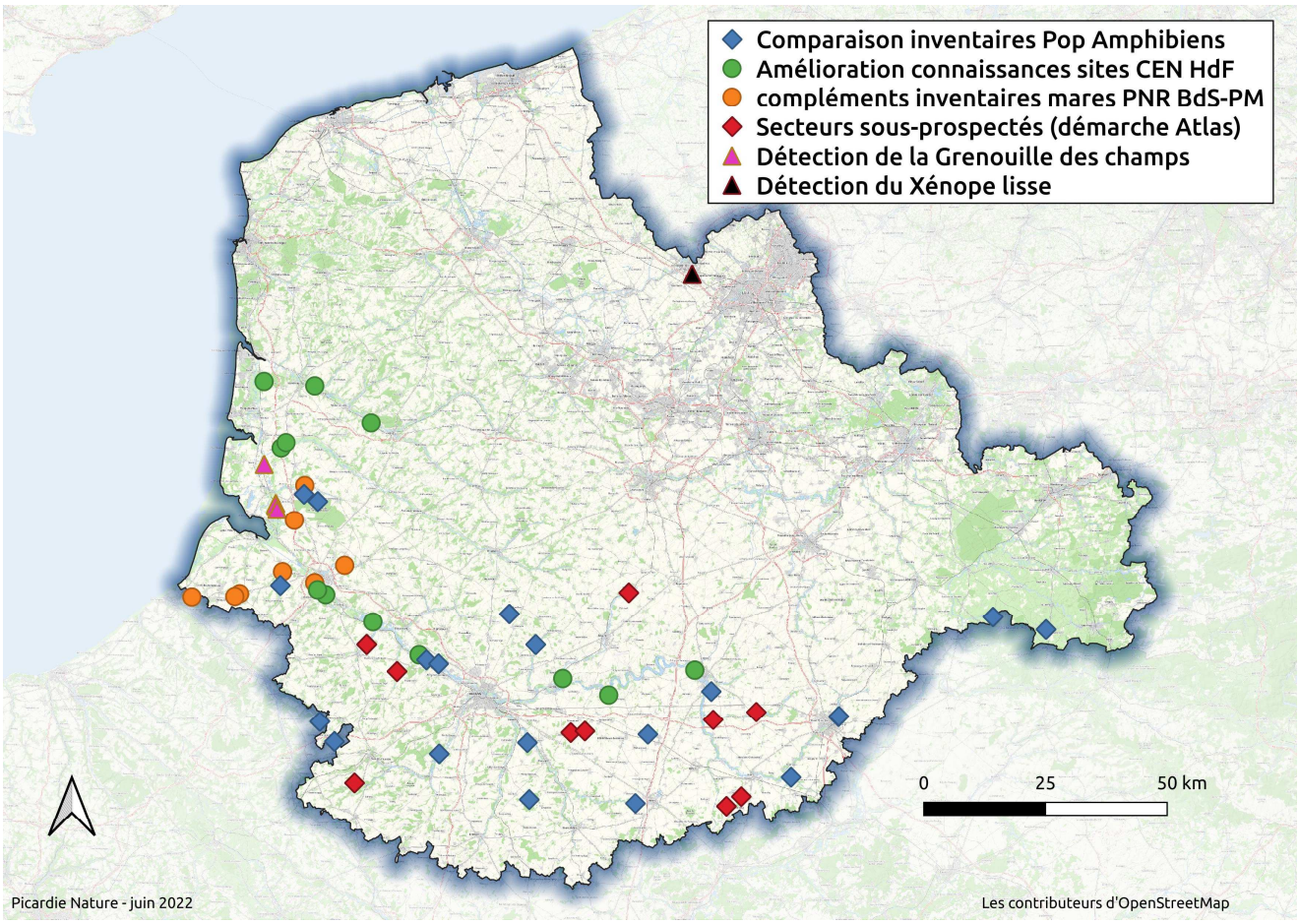
Photo 2 : Matériel utilisé - © Antonin WATERSCHOOT

Généralement les échantillons ont concerné un seul point d'eau, mais dans certains cas la présence de plusieurs zones en eau sur des surfaces assez réduites, a conduit à échantillonner plusieurs sites pour optimiser les chances de détection des espèces présentes. Cette technique présente cependant l'inconvénient de ne pas pouvoir préciser le point d'eau exact où les espèces ont été détectées, mais reste intéressante pour avérer la présence de celles-ci sur un site.

Résultats

État des prélèvements

Les 60 sites de prélèvements se répartissent majoritairement sur la partie picarde du Bassin Artois-Picardie, notamment sur la Plaine Maritime Picarde et le long de la vallée de la Somme et ses affluents. Un tiers des prélèvements a été utilisé dans le cadre des inventaires POPAmphibien (qui fait appel à la « méthode traditionnelle » de recherche des amphibiens, voir plus loin), afin d'avoir un échantillonnage suffisamment solide pour comparer l'efficacité de la méthode. Une grande partie a également été associée aux recherches de connaissances sur les sites gérés par le conservatoire, puis aux prospections sur des secteurs sous-prospectés et aux suivis menés dans le cadre des inventaires mares menés par le PNR BdS-PM. Enfin, une petite partie restante a servi à la détection de la Grenouille des champs *Rana arvalis* et du Xénope lisse *Xenopus laevis*.

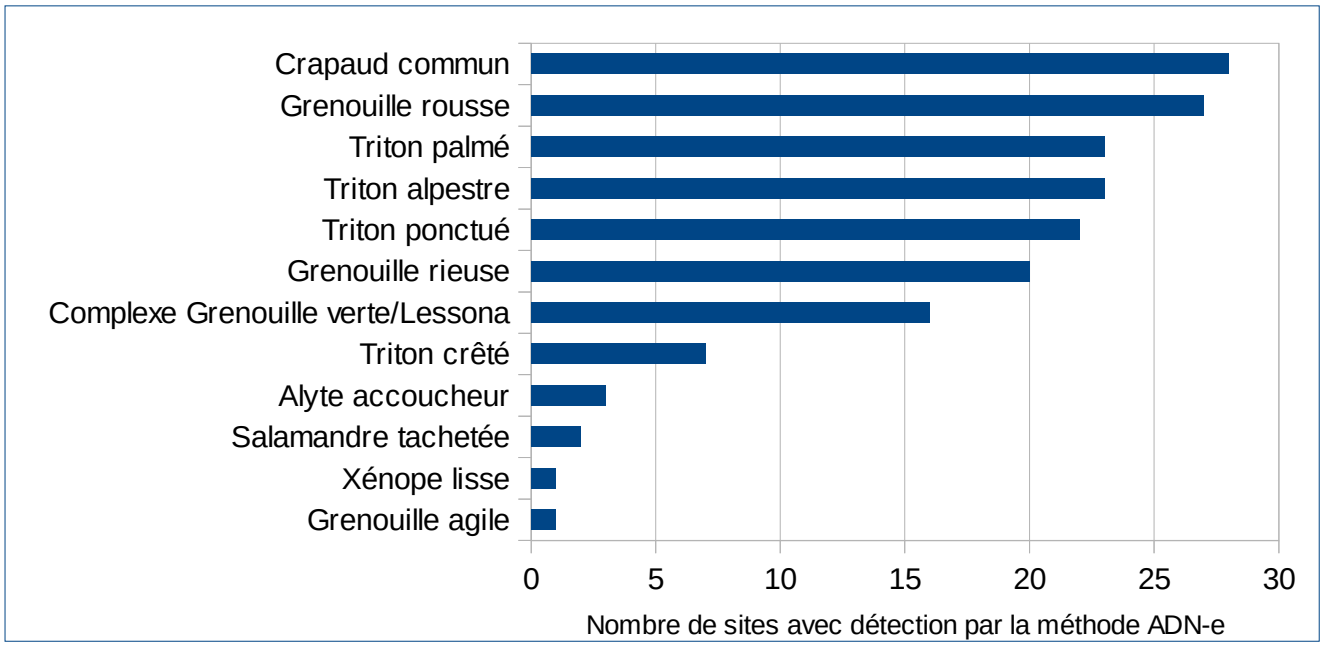


Carte 1 : Répartition des prélèvements ADNe réalisés de 2019 à 2021

Présentation générale des résultats

Les résultats délivrés par le laboratoire SPYGEN concernent 176 données pour 12 taxons détectés en incluant le complexe *Pelophylax esculentus/lessona*. Trois échantillons sont revenus négatifs et concernent les prélèvements réalisés pour la détection du Xénope Lisse. Il s'agissait de zones en eau peu favorables aux amphibiens, mais où la présence potentielle de cette espèce était tout de même à vérifier.

Sur les 12 taxons détectés, 6 sont particulièrement bien représentés et présents sur au moins un tiers des sites échantillonnés. Il s'agit du Crapaud commun *Bufo bufo*, des Grenouilles rousse *Rana temporaria* et rieuse *Pelophylax ridibundus*, ainsi que des Tritons palmé *Lissotriton vulgaris*, alpestre *Ichthyosaura alpestris* et ponctué *Lissotriton helveticus*.

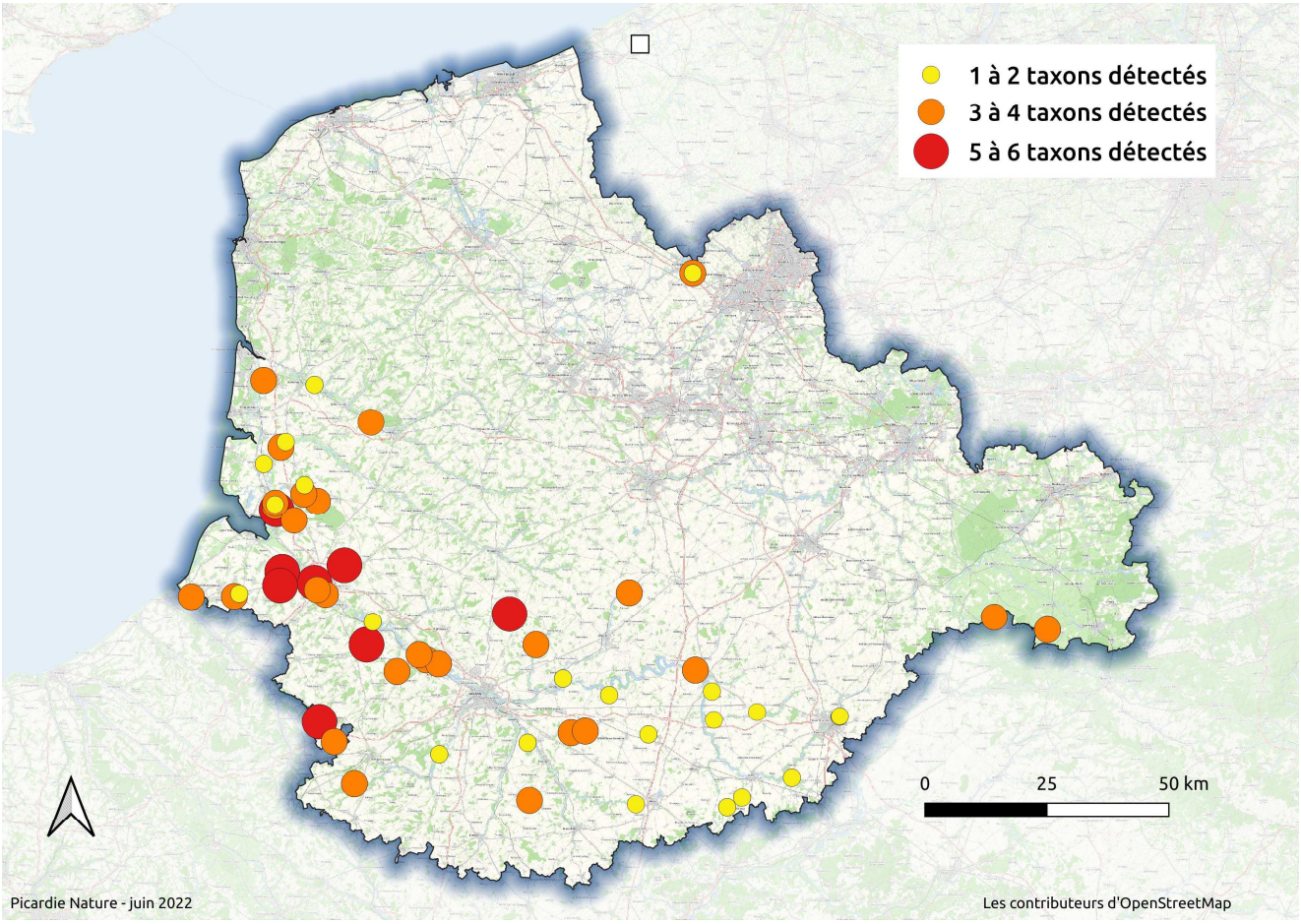


Graphique 1 : Taxons détectés et nombre de sites concernés

Les résultats du nombre de taxons détectés varient de 0 à 6, avec une moyenne de 2,95 taxons par site de prélèvement. La détection concerne généralement entre 2 et 4 taxons. Les sites avec 5 à 6 taxons sont globalement minoritaires (13 % des échantillons).

Ces derniers sont essentiellement situés sur le secteur de la Picardie Maritime, mais aussi sur quelques affluents de la Somme (l'Hallue et l'Airaines), voire parfois directement sur le plateau comme dans le secteur d'Hornoy-le-Bourg. Les sites avec 1 à 2 taxons détectés sont bien représentés dans le secteur du Santerre, où dominent des paysages de grande culture.

La probabilité de détection des taxons semble ainsi naturellement associée à la localisation des sites et la qualité paysagère associée.



Carte 2: Répartition des sites selon le nombre de taxons détectés

Évaluation de la méthode par comparaison au suivi mené dans le cadre du programme POPAmphibien

Le protocole POPAmphibien peut être résumé en un suivi de l'évolution de l'état de la batrachofaune à partir de l'estimation de l'occurrence des communautés d'amphibiens dans les sites aquatiques.

Sa mise en place repose sur la sélection d'aires, à l'intérieur desquelles se trouvent des sites aquatiques (comme des mares par exemple). Le suivi des sites se fait lors de 3 passages (3 à 4 heures maximum) réalisés dans l'année de mars à juillet, durant la période de reproduction, afin de détecter l'ensemble des espèces potentielles.

L'effort de prospection est identique et cadré pour chaque site (méthode de détection, moment, durée...). Les moyens de détections « traditionnelles » utilisés sont la détection à vue (pontes, larves, adultes), mais aussi les contacts auditifs. Un protocole de pêche à l'épuisette est également appliqué en complément, en veillant à limiter l'impact sur le milieu.

Le premier et troisième passage se déroule de jour et le second passage de nuit en s'aidant d'une lampe torche (SHF, 2022).

Afin de répondre à l'objectif de comparaison des 2 méthodes, 20 prélèvements ADNe ont été réalisés sur 20 sites concernés par le protocole POPAmphibien. Deux structures ont été mises à contribution, Somme-Nature et le CPIE 02, concernés respectivement par 15 et 5 échantillons.

Les prélèvements ADNe ont été réalisés de début mai à la mi-juin, généralement lors du 2eme passage des suivis POPAmphibien, période optimale pour la détection de la plupart des espèces d'Amphibiens en milieu aquatique.

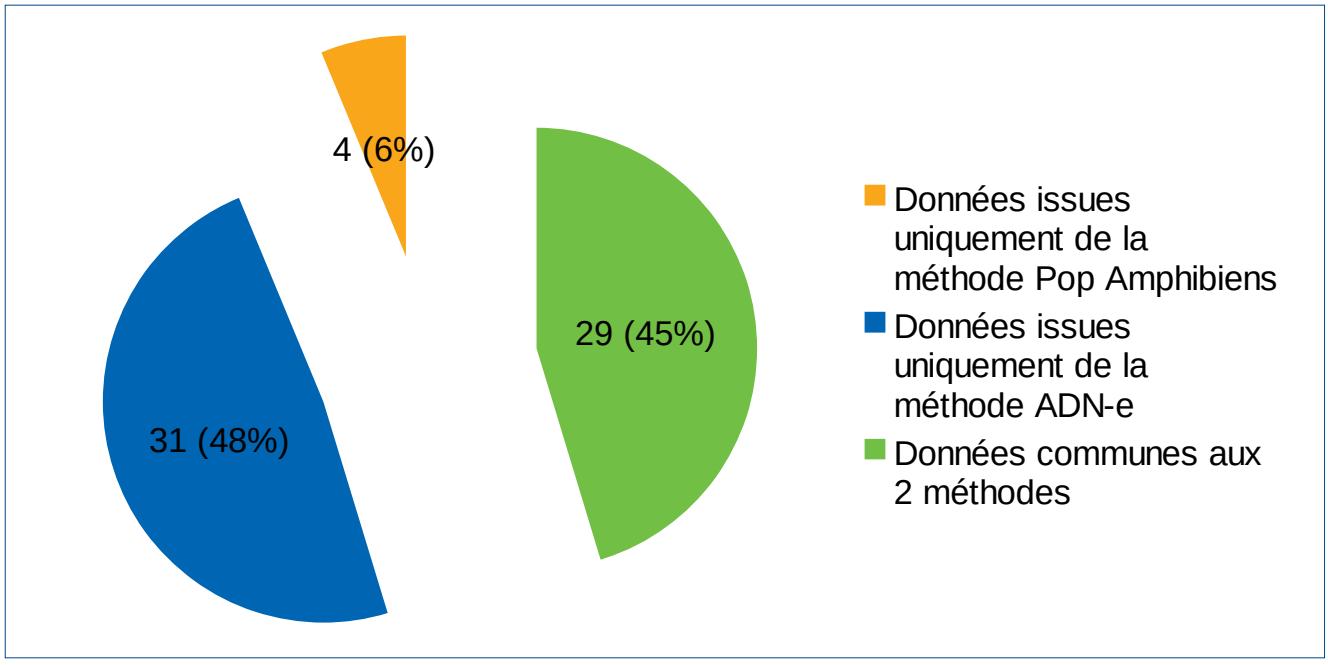
En plus de comparer les deux méthodes sur une période précise (le passage durant les prélèvements), nous avons ensuite réalisé une comparaison des résultats ADNe avec l'ensemble des résultats obtenus sur la même saison POPAmphibien, c'est-à-dire lors des 3 passages.

Comparaison avec le passage POPAmphibien réalisé lors des prélèvements ou à une date proche

L'utilisation des deux méthodes lors des prélèvements ou à une date proche a permis de cumuler 64 données de présence d'amphibiens sur les 20 sites échantillonnés.

Les résultats montrent que **la méthode ADNe a permis de collecter près de 2 fois plus de données** de présence d'espèces sur les sites échantillonnés, par rapport à l'utilisation des méthodes dites « traditionnelles ».

La méthode est donc particulièrement intéressante lorsqu'un seul passage de suivi traditionnel est possible. On note toutefois 4 « faux négatifs », c'est à dire des données d'espèces présentes lors des relevés, mais non détectées par la méthode ADNe.



Graphique 2 : Nombre de données batrachologiques obtenues lors du prélèvement ADNe et du passage POPAmphibien associé

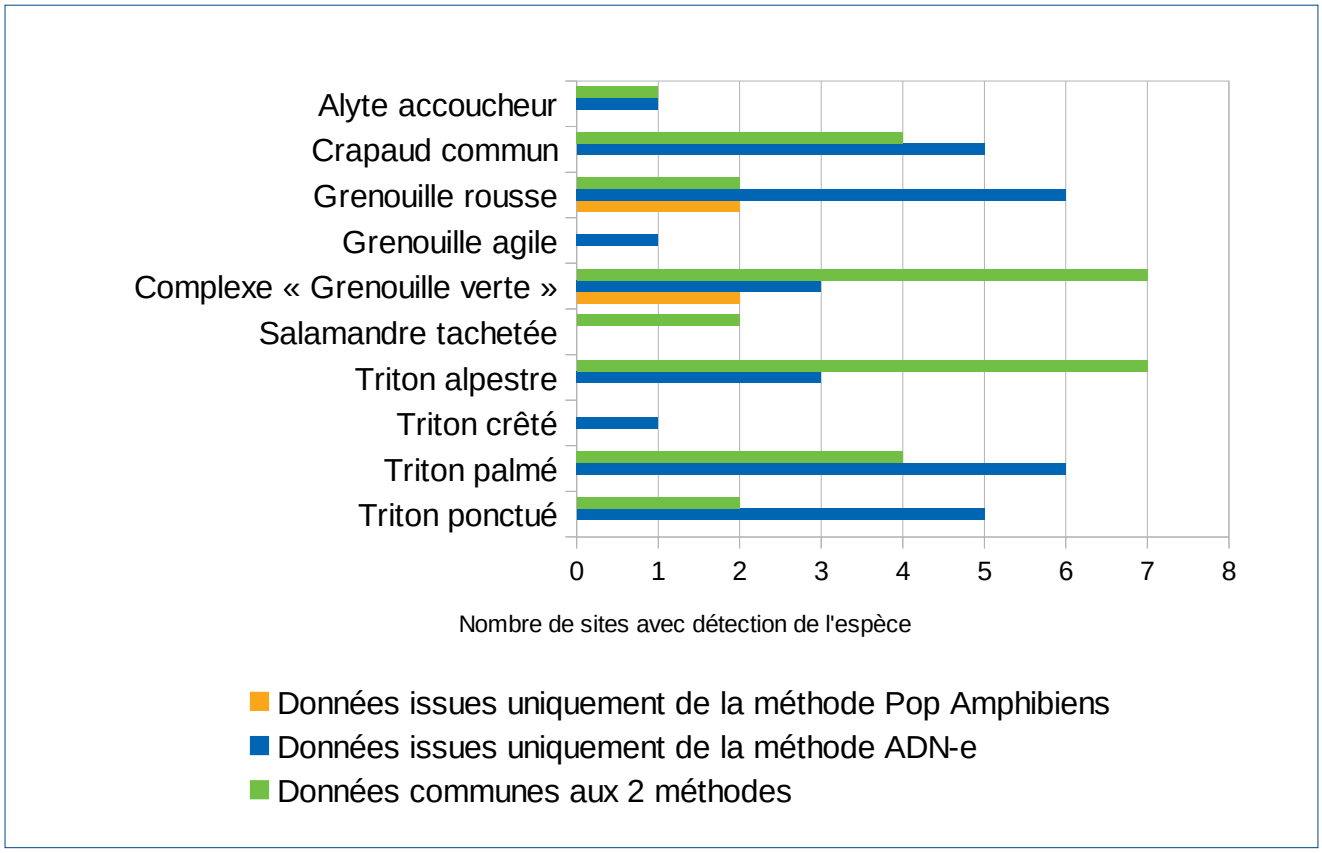
La méthode ADNe a permis d'apporter des données supplémentaires pour 9 taxons dont 2 n'ont pas été observés par les méthodes traditionnelles. Il s'agit de la Grenouille agile *Rana dalmatina* et du Triton crêté *Triturus cristatus,* deux espèces peu fréquentes sur le territoire, qui de ce fait peuvent facilement passer inaperçues lors des inventaires.

Notons que pour 6 espèces, les données collectées proviennent majoritairement de la méthode ADNe : le Crapaud commun *Bufo bufo*, les Grenouilles rousse *Rana temporaria* et agile, les Tritons crêté *Triturus cristatus*, palmé *Lissotriton vulgaris* et ponctué.

L'efficacité de la méthode ADNe et la sous-détection par les méthodes d'inventaires classiques a déjà été démontrée pour les tritons et le Crapaud commun, notamment à travers une étude menée en 2013 en Ile -de-France (ZUCCA M. & MEUNIER C., 2013).

Concernant les Grenouilles rousse *Rana temporariaet* et agile *Rana dalmatina*, la sous-détection observée ici par les méthodes traditionnelles s'explique par la période des prélèvements (mai-juin), qui se situe en dehors de la pleine période de reproduction de ces 2 espèces (mars-avril). Ce même constat peut être valable pour le Crapaud commun *Bufo bufo*.

Notons que 2 taxons sont concernés par des « faux négatifs », la Grenouille rousse *Rana temporaria* et le complexe des « Grenouilles vertes » *Lessona : Pelophylax sp.* , sans explications apparentes.

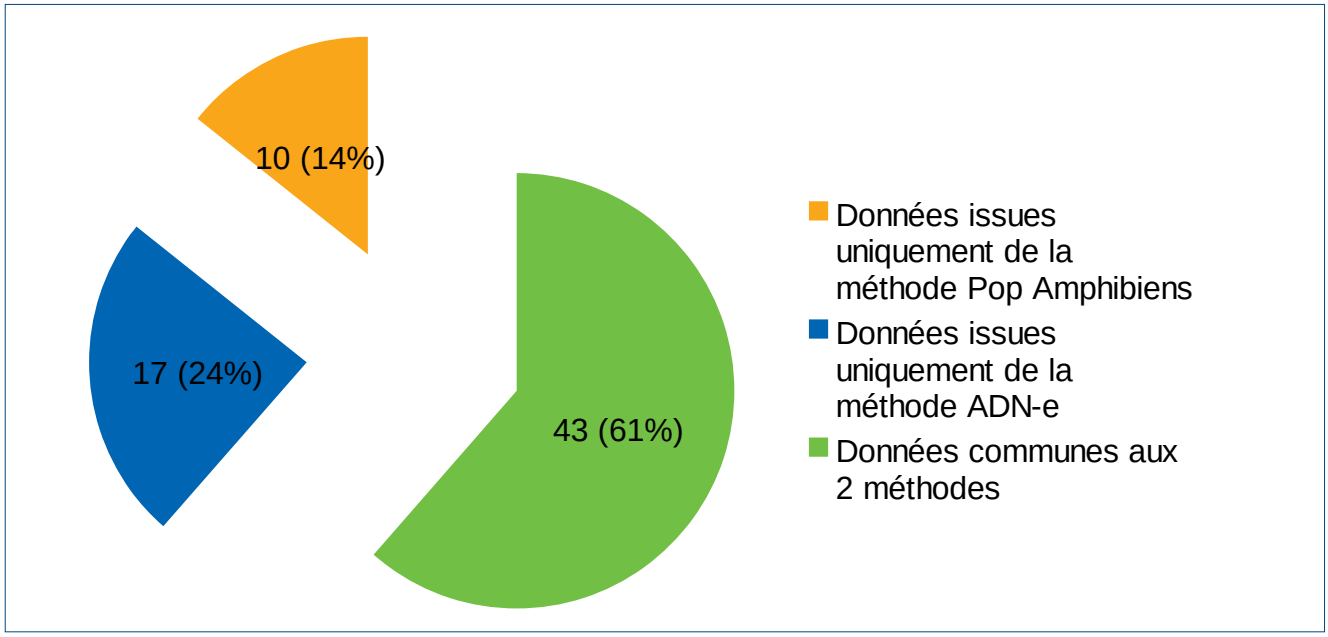


Graphique 3 : Comparaison des deux méthodes « ADNe » et « POPAmphibien » d'après le nombre de détections des espèces sur les 20 sites échantillonnés lors des prélèvements

Comparaison des résultats de la méthode ADNe avec ceux issus de l'ensemble de la saison POPAmphibien (3 passages)

La considération des résultats issus de l'ensemble de la saison POPAmphibiens (3 passages), durant l'année des prélèvements, permet de comparer la méthode ADNe avec une plus forte pression d'observation liée aux méthodes « traditionnelles ». Les résultats obtenus cumulent 70 données de présence d'amphibiens sur les 20 sites échantillonnés.

Par rapport à l'analyse précédente, on observe naturellement une réduction de la part des données issues uniquement de la méthode ADNe qui représente tout de même un quart des données collectées (24%). Les données communes aux 2 méthodes augmentent amplement (de 48 à 61%), mais aussi la part des faux-négatifs (de 6 à 14%).



Graphique 4 : Nombre de données batrachologiques obtenues suite aux prélèvements ADNe et aux 3 passages POPAmphibien

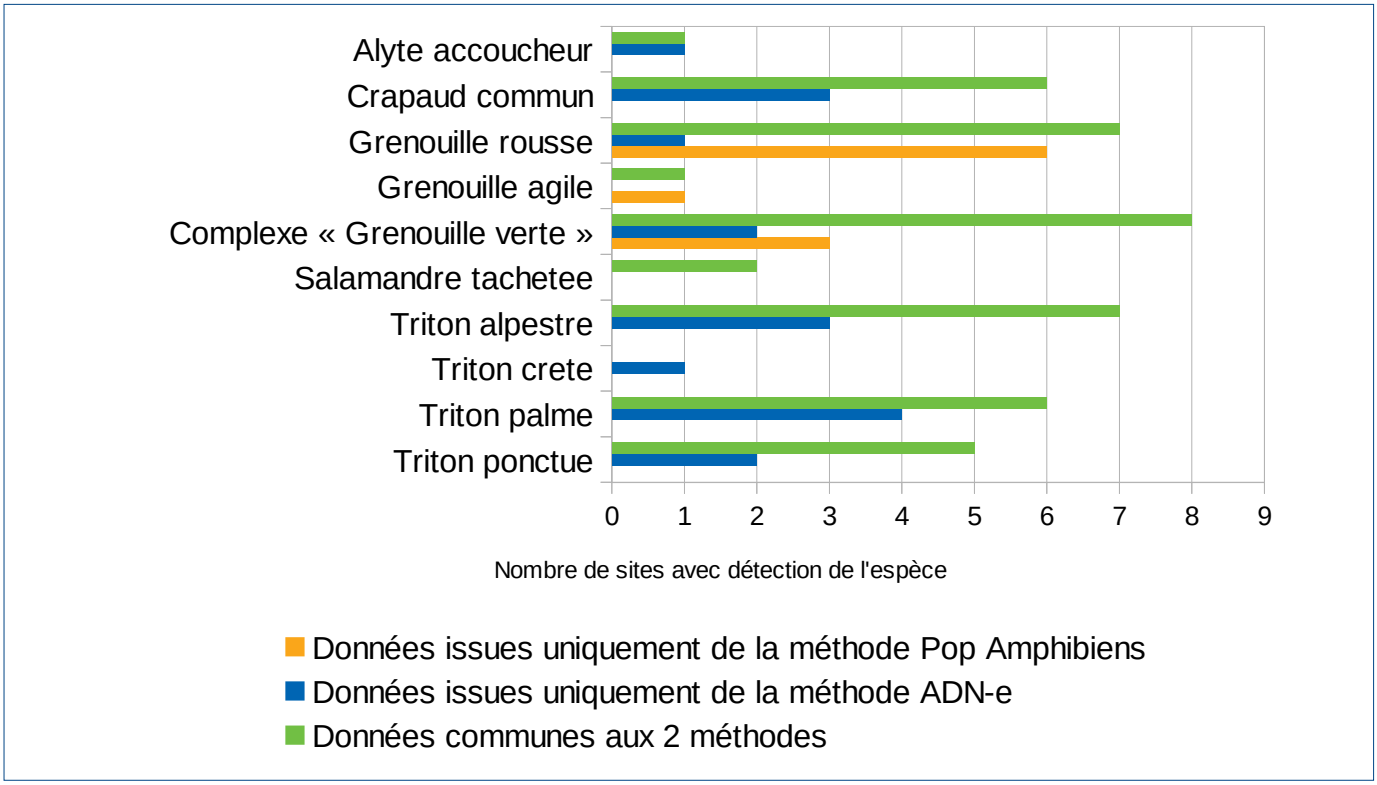
8 espèces ont bénéficié ici de la méthode ADNe, notamment les tritons qui se démarquent à nouveau avec 36 % des détections liées à la méthode, dont une espèce supplémentaire, le Triton crêté *Triturus cristatus.*

Notons également une part de détection toujours très intéressante du Crapaud commun *Bufo bufo* par la méthode ADNe, ainsi que potentiellement pour l'Alyte accoucheur *Alytes obstetricans*, bien que le nombre de contacts réduits pour cette dernière espèce ne permet pas d'apprécier pleinement ce bénéfice.

Enfin, 3 espèces ont échappé à la détection ADNe sur certains sites. Il s'agit de l'ensemble des grenouilles contactées, et tout particulièrement de la Grenouille rousse *Rana temporaria* pour laquelle 43 % des données de présence proviennent uniquement de la méthode POPAmphibien. La sous-détection observée pourrait s'expliquer par la période des prélèvements (mai-juin) où le taxon semblerait absent d'une partie des sites aquatiques (têtards métamorphosés, pontes non abouties...) mais aussi potentiellement par un biais de la méthode ADNe, comme par exemple une trop faible quantité d'ADNe dans le milieu durant les échantillonnages.

Rappelons cependant, d'après l'analyse précédente (Cf. graphique 5), qu'un grand nombre de détections de Grenouille rousse ont à contrario été obtenues par la méthode ADNe lors des prélèvements de mai-juin, alors qu'elles étaient passées inaperçues avec la méthode POPAmphibien.

Les 2 méthodes semblent donc ici très complémentaires pour la détection de cette espèce. Notons qu'idéalement la réalisation de 2 prélèvements ADNe (en début et fin de saison de reproduction) seraient nécessaire pour connaître l'ensemble des espèces (précoces et tardives) présentent sur un site par le biais de cette méthode, notamment en cas d'assèchement du milieu durant la saison.



Graphique 5 : Comparaison des deux méthodes d'après le nombre de détections des espèces sur les 20 sites échantillonnés en considérant les 3 passages POPAmphibien réalisés durant la saison des prélèvements.

Amélioration des connaissances sur la répartition des amphibiens par la méthode ADNe

L'amélioration des connaissances a été appréciée en considérant la détection d'au moins une nouvelle espèce sur les 51 communes et les 50 mailles (5x5km) concernées par les prélèvements ADNe.

Les résultats montrent ainsi un apport de connaissance sur 18 communes et 13 mailles, concernant 7 espèces d'amphibiens. Les principales bénéficiaires sont les 4 espèces de triton présents dans la région et la Grenouille rieuse *Pelophylax ridibundus*.

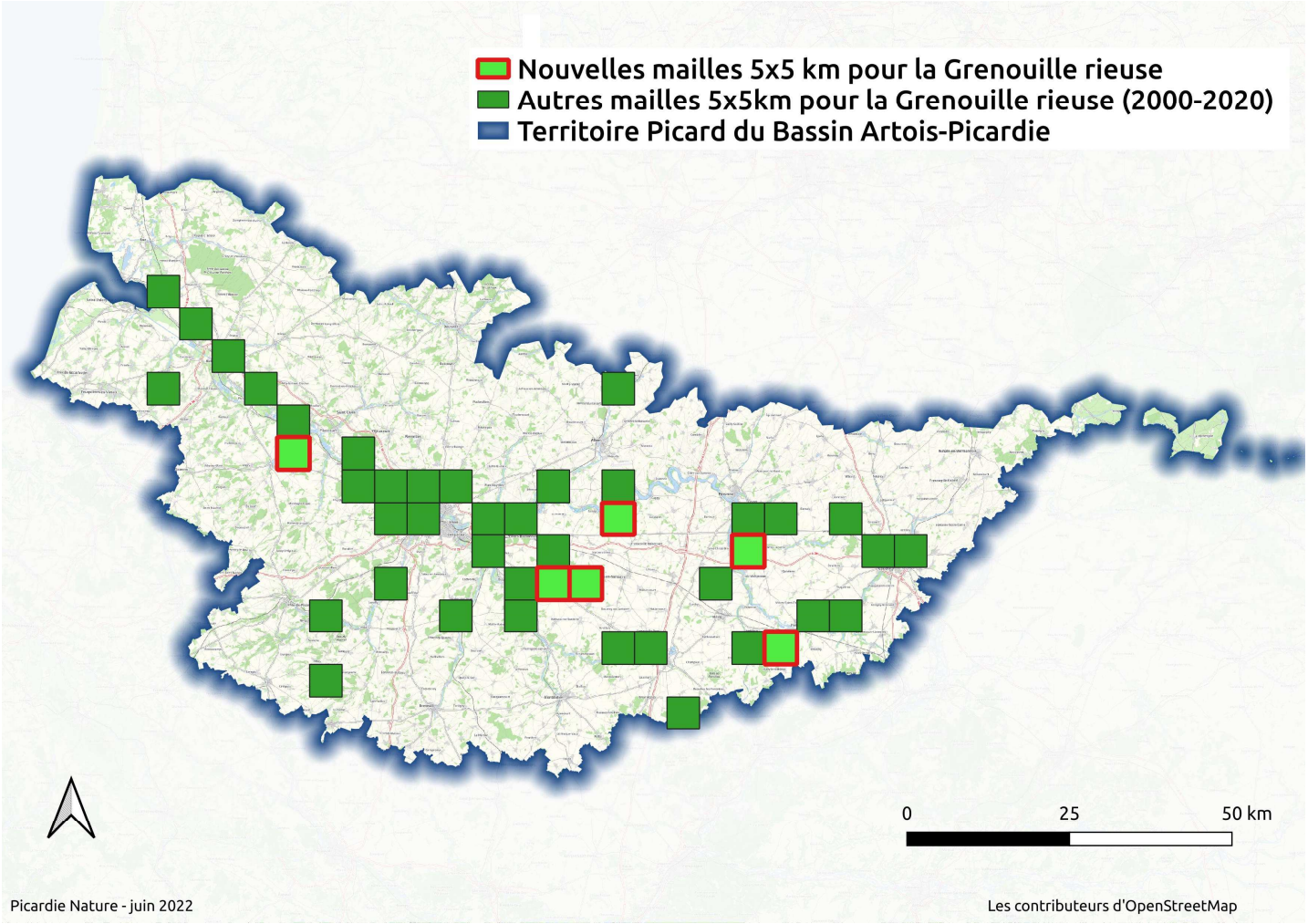
Nom scientifique	Nom vernaculaire	Nb nouvelles communes	Nb nouvelles mailles
Alytes obstetricans	Alyte accoucheur	**1**	**0**
Rana temporaria	Grenouille rousse	**2**	**0**
Pelophylax ridibundus	Grenouille rieuse	**7**	**6**
Ichthyosaura alpestris	Triton alpestre	**5**	**3**
Triturus cristatus	Triton crêté	**6**	**6**
Lissotriton helveticus	Triton palmé	**5**	**2**
Lissotriton vulgaris	Triton ponctué	**7**	**7**

Tableau 1 : amélioration des connaissances

Zoom sur 3 espèces ayant bénéficié de la méthode ADNe

- **La Grenouille rieuse *Pelophylax ridibundus***

L'espèce a été découverte sur 6 nouvelles mailles, soit 14 % des mailles actuellement connues sur la période 2000 à 2021. La méthode ADNe, en plus d'apporter une évolution assez notable sur la répartition de cette espèce, permet également de certifier sa présence sur les mailles concernées, la détermination sur le terrain à vue ou à l'écoute pouvant parfois être délicate.



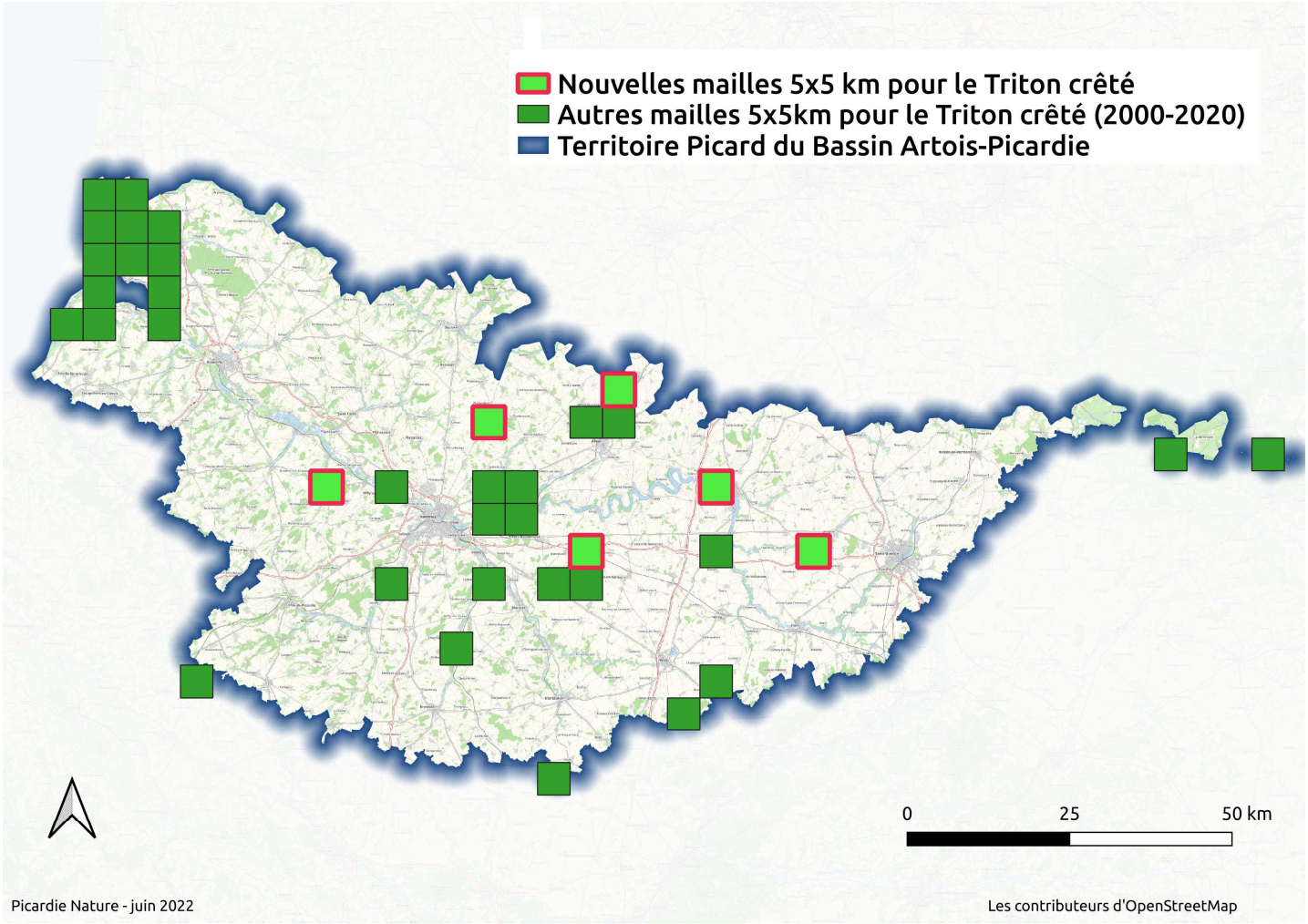
Carte 3 : Évolution de la répartition de la Grenouille rieuse suite à l'utilisation de la méthode ADNe



Photo 3 : grenouille rieuse - © Sébastien MAILLER

• **Le Triton crêté *Triturus cristatus***

L'espèce a été découverte sur 6 nouvelles mailles, soit 16% des mailles actuellement connues sur la période 2000 à 2021. L'apport des connaissances par la méthode ADNe est ainsi notable, pour cette espèce rare et menacée, généralement difficile a détecter sur le terrain. On notera en particulier la découverte de nouveaux secteurs, parfois éloignés de ceux connus auparavant, ce qui laisse supposer une sous-détection importante du Triton crêté par les méthodes d'études traditionnelles et une sous-estimation de sa répartition.



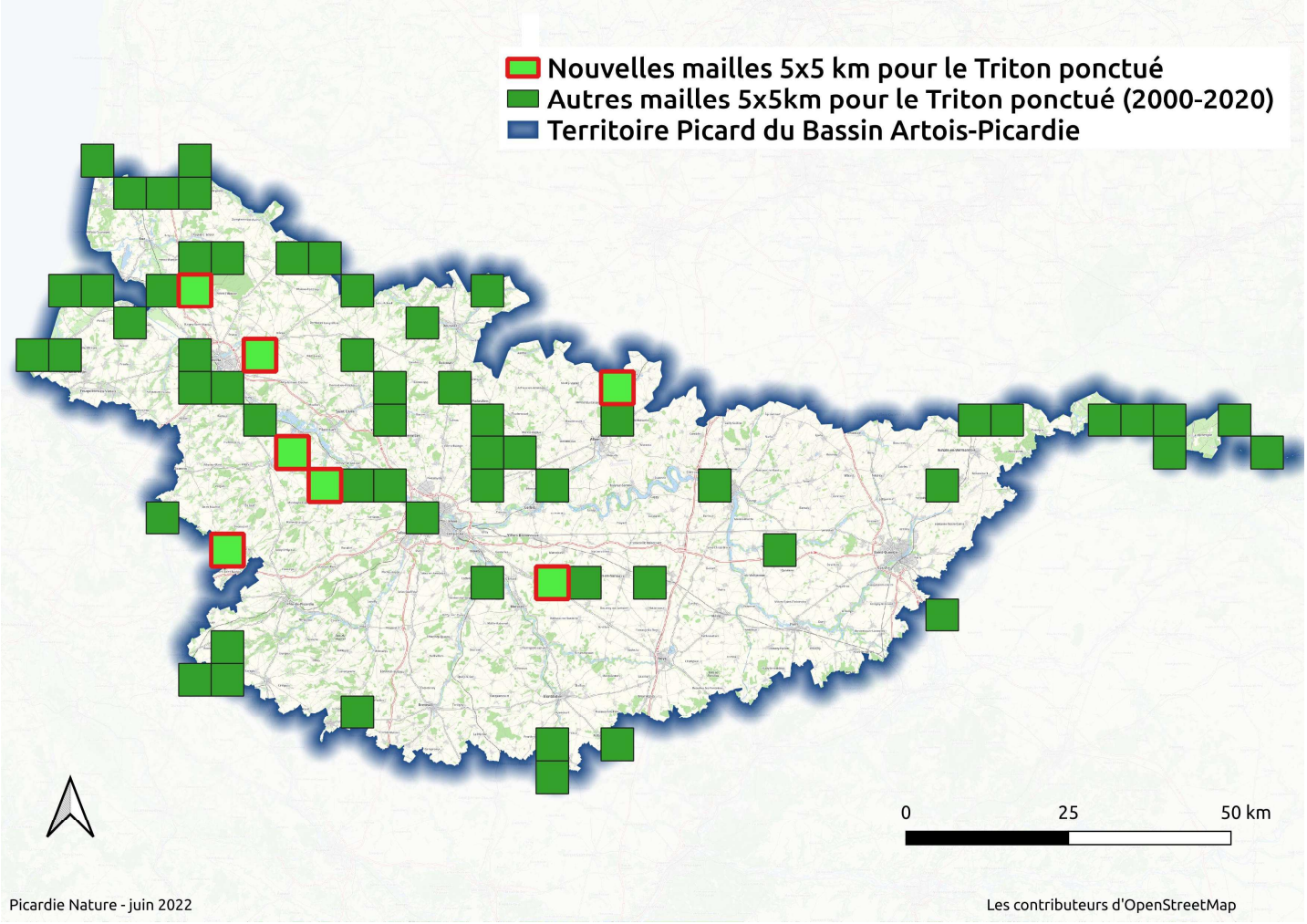
Carte 4 : Évolution de la répartition du Triton crêté suite à l'utilisation de la méthode ADNe.



Photo 4 : triton crêté - © Yves DUBOIS

• **Le Triton ponctué *Lissotriton helveticus***

L'espèce a été découverte sur 7 nouvelles mailles, soit 10% des mailles actuellement connues sur la période 2000 à 2021. L'amélioration des connaissances par la méthode ADNe est donc particulièrement intéressante pour cette espèce qui comme le Triton crêté semblerait sous-détectée par les méthodes traditionnelles.



Carte 5 : Évolution de la répartition du Triton ponctué suite à l'utilisation de la méthode ADNe



Photo 5 : triton ponctué - © Damien TOP

Apport de la méthode ADNe sur les projets d'études amphibiens menées durant les suivis

Dans le cadre des inventaires menés par le Parc Naturel Régional Baie de Somme – Picardie Maritime, 32 détections d'amphibiens ont été obtenues grâce à la méthode dont 18 (56%) correspondent à des nouvelles observations sur les 8 mares inventoriées. 7 taxons sont concernés en particulier les Tritons alpestre et ponctué détectés respectivement sur 5 et 4 mares.

Les 12 prélèvements réalisés sur les sites du Conservatoire des Espaces Naturels des Hauts-de-France ont permis de collecter 32 données concernant 8 taxons. Les résultats vont ainsi permettre d'améliorer la prise en compte des enjeux batrachologiques dans les mesures de gestion réalisés sur les sites concernés, en particulier le site de Halles à Péronne (80), avec la détection du Triton crêté, une espèce d'intérêt patrimonial.

Concernant les suivis POPAmphibien, les 20 prélèvements réalisés par Somme Nature et le CPIE 02 ont permis de cumuler 60 données, dont 10 présentent un apport de connaissance sur 8 sites pour 6 espèces concernées, dont le Triton ponctué et le Triton crêté, espèces classées comme « quasi-menacé » et « Vulnérable » en Picardie.

Les recherches sur 12 secteurs sous-prospectés menées par Picardie Nature, ont permis de cumuler 30 données dont 15 (50%) concernent des découvertes communales et des compléments de mailles « atlas ». 90 % des échantillons ont ainsi permis de faire avancer les connaissances sur la répartition de 5 espèces : la Grenouille rieuse, les Tritons alpestre, crêté, palmé et ponctué.

Les 5 prélèvements concernant le suivi du Xénope lisse sur et aux abords de la population de la Chapelle d'Armentières (59) réalisés par le Groupe Ornithologique et Naturaliste du Nord/Pas-de-Calais, ont permis de démontrer l'efficacité de la méthode dans la détection de cette « Espèce Exotique Envahissante » avec un test positif sur la station même. Les autres échantillons réalisés aux abords de la station se sont révélés négatifs apportant une information intéressante dans le cadre du plan de lutte réalisé localement sur cette espèce.

Concernant le suivi de la Grenouille des champs mené par le Syndicat Mixte Baie de Somme – Grand Littoral Picard, les 5 prélèvements effectués aux abords de la station connue (Blondel, 2014) se sont tous montrés négatifs. Soulignons que certains des prélèvements ont été réalisés sur des mares nouvellement créées, ce qui a permis de montrer que la colonisation de l'espèce n'y était pas encore effective. Globalement cette absence de résultat positif semble renforcer l'hypothèse que l'unique population connue de Grenouille des champs sur le littoral picard est fortement localisée. Cette information apporte ainsi un complément pour les actions de conservation entreprises sur cette espèce « en danger critique d 'extinction » en Picardie.

Conclusion

L'utilisation de la méthode ADNe pour la recherche des amphibiens sur le bassin Artois-Picardie (2019 à 2021) a permis de répondre à divers objectifs comme montrer l'efficacité de cette méthode en complément des techniques d'étude dites « traditionnelles », d'améliorer les connaissances sur la répartition des espèces, ou encore d'apporter des compléments sur le suivi de certaines espèces à enjeux (ex. Grenouille des champs) ou problématiques (ex. Xénope lisse).

Certaines espèces comme la Grenouille rieuse, les Tritons ponctué et crêté ont particulièrement bénéficié de cette avancée des connaissances, indiquant une sous-détection actuelle de ces espèces par les méthodes dites « traditionnelles ».

Il semble important de rappeler que malgré son apparente efficacité dans la détection des espèces, la méthode ADNe reste complémentaire aux méthodes traditionnelles. Elle ne permet pas de renseigner des éléments précieux comme l'abondance des populations, le sexe, l'âge, le succès reproducteur, le ratio Mâle/Femelle ou encore l'état sanitaire.

Enfin, les résultats du projet montrent l'intérêt de renouveler ce type d'étude, notamment sur les secteurs sous-prospectés présentant de fortes lacunes de connaissances. La reconduction régulière sur certains sites témoins, peut être un bon complément pour apprécier l'évolution de certaines espèces et jouer un rôle de veille supplémentaire dans le suivi des populations d'amphibiens.

Remerciements

À l'ensemble des personnes ayant effectué les prélèvements :
Vincent ACLOQUE (Picardie Nature), Marie ANGOT (GON), David ADAM (CEN HdF), Benjamin BLONDEL (SMBdS-GLP), Baptiste BOUTILLEUX (GON), Florian CHEVALLIER (PNR BdS-PM), Camille GOSSE (CPIE 02), Tristan GUILLEBOT DE MERVILLE (SMBdS-GLP), Guénael HALLART (CPIE 02), Robin QUEVILLART (GON), Sébastien LEGRIS (Picardie Nature), Raphael TROMBERT (Somme Nature) et Antonin WATERSCHOOT (Somme Nature).

Ainsi qu'aux observateurs qui nous ont accompagnés durant les prélèvements :
Perrine BRICE, Maxime FOUQUART, Julie LAIGLE, Xavier LETHEVE, Anne-Gaëlle MOTHÉ, Maguelonne PENNEC et Odile PLATEAUX.

Bibliographie

ACQUEBERGE M. (2013). Comparaison des techniques d'inventaires des amphibiens : méthodes classiques et Environmental DNA Metabarcoding. Application sur un projet de ligne à grande vitesse, mémoire de master expertise faune-flore, MNHN/Ecosphère.

ARNAL & al. (2020). Méthodologie ADNe amphibiens - prélèvements sur le terrain. 16 pages.

BLONDEL B. (2014). Redécouverte de la Grenouille des champs Rana arvalis en Picardie (Ponthoile, 80). L'Avocette 2014 - 38 (2) p. 27 – 29.

LEGRIS S. (2022). Programme de recherche des Amphibiens par la méthode de collecte d'ADNenvironnemental mené de 2019 à 2021 sur le bassin Artois-Picardie. Picardie Nature. 32 pages.

POULET N. & BASILICO L. (2019). L'ADN environnemental pour l'étude de la biodiversité. État de l'art et perspectives pour la gestion. Agence française pour la biodiversité. Collection Rencontres-Synthèse. 72 pages.

SPYGEN (2019). Protocole d'échantillonnage pour milieu aquatique stagnant de petite taille. 4 pages.

JEAN P. (2013). La détection des espèces par l'ADN environnemental : vers un nouvel outil de veille écologique des milieux aquatiques stagnants, mémoire de master « sciences des sociétés et de leur environnement », Université Lyon 2.

ZUCCA M. & MEUNIER C. (2013). Réflexions, programmes de recherches, et suivis pour améliorer la connaissance sur la biodiversité urbaine. De l'ADN pour l'inventaire des mares p. 94-100. Natureparif

HF & al. (2022). Programme POP - Protocole POPAmphibien Communauté. 14 pages

Sébastien LEGRIS
sebastien.legris@picardie-nature.org
Picardie Nature
233 rue Eloi Morel
80000 Amiens