

Détection de la présence de populations d'Ecrevisses à pattes blanches (*Austropotamobius pallipes*) par ADNe dans le département de l'Aisne

Contexte

L'Ecrevisse à pattes blanches (*Austropotamobius pallipes*, Lereboullet 1858), était autrefois très commune à l'Ouest de l'Europe. En très fort recul, ses populations sont aujourd'hui fractionnées et cantonnées aux têtes de bassins versant et aux amonts des ruisseaux. Elle est souvent considérée comme un « bio-indicateur », car sa présence est généralement signe de très bon état du cours d'eau. Classée « En danger » par l'UICN, *A. pallipes* figure à l'Annexe III de la Convention de Berne, aux annexes 2 et 5 de la Directive Habitats.

Dans l'Aisne, elle a longtemps été considérée comme disparue, avant que sa présence ne soit à nouveau signalée au début des années 2000. Elle y est cependant menacée par trois espèces nord-américaines : *Orconectes limosus*, *Procambarus clarkii*, et *Pacifastacus leniusculus*. Celles-ci sont très bien implantées dans la région, et peuvent être porteuses de maladies dont la « peste de l'écrevisse », capable de décimer des populations entières d'écrevisses à pattes blanches en quelques mois.

A partir de ces constats, la Fédération de l'Aisne pour la Pêche et la Protection du Milieu Aquatique (FAPPMA 02) a pris la décision depuis 2018 de se pencher sur l'étude des écrevisses dans le département. Il s'agit de comprendre les caractéristiques des dernières populations d'Ecrevisses à pattes blanches dans l'Aisne, et les enjeux actuels autour de la conservation de cette espèce.



Ecrevisse à pattes blanches, Essômes, 2022



Prospection à la lampe frontale

Les prospections nocturnes et leurs limites

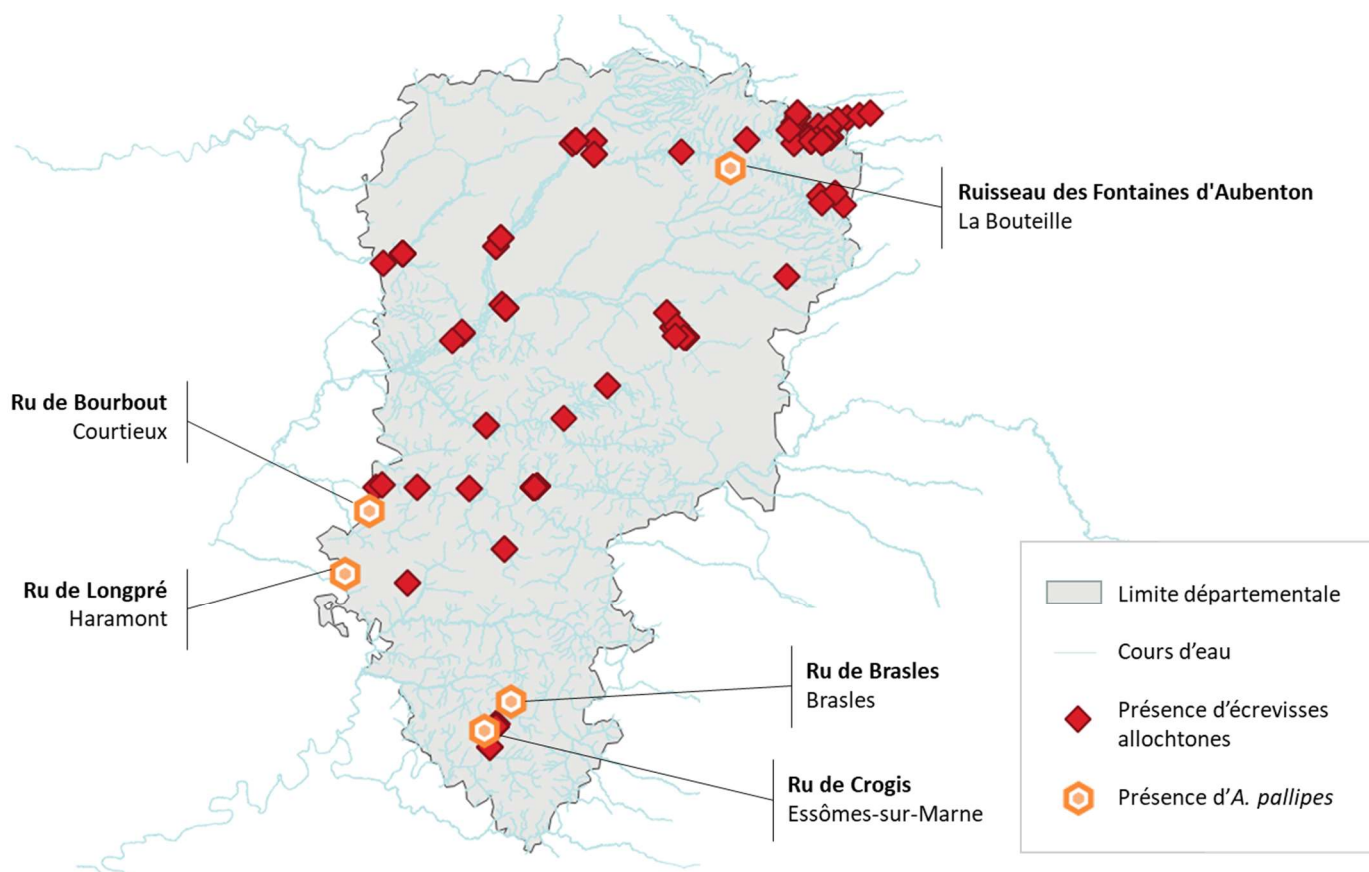
Sur le modèle de ce qui avait pu être effectué par le CSP et le CEN, des prospections nocturnes ont été organisées à partir de 2018 à la fois pour rechercher des populations dans des zones suspectées de pouvoir les abriter, mais également pour caractériser l'état des populations connues et leur évolution.

Une première campagne de 20 prospections en 2018 a ainsi permis de confirmer la présence d'*A. pallipes* sur 3 cours d'eaux et de constater celle des invasives sur quelques 6 autres.

Aujourd'hui, la FDAPPMA 02 se fixe comme objectif de réaliser 5 prospections par an à la fois de façon prospectives et sur les populations connues. Ces dernières permettent de relever certains

paramètres démographiques sur les individus (nombre, taille, sexe, pathologies, présence d'œufs) utiles pour suivre l'état de santé des populations. Par exemple, cela a permis de tirer la sonnette d'alarme au niveau du Ru de Crogis fin 2022, face à la constatation d'une diminution inquiétante du nombre d'individus recensés.

En plus de ces prospections, la FAPPMA 02 note désormais sur le terrain toute observation d'écrevisse allochtone et effectue une veille systématique des données astacicoles sur le département et les zones frontalières. Ceci permet d'enrichir les connaissances encore assez lacunaires sur le sujet, mais aussi de suivre la progression des EEE dans notre département.



Cependant, les prospections à la lampe torche présentent des inconvénients majeurs :

- Elles sont très chronophages et nécessitent de nombreux agents sur le terrain de nuit ;
- Elles sont très dépendantes des conditions environnementales (turbidité, pluie, luminosité...);
- Elles peuvent se révéler difficiles voire impossibles (si le terrain est accidenté ou si la végétation est trop importante, par exemple) ;
- L'activité des écrevisses est aléatoire même en été, et il est donc possible de passer à côté d'une population.

Apport de l'ADN environnemental

L'ADN environnemental (ADNe) est une technique de plus en plus utilisée au cours de ces dernières années. Elle consiste à identifier une espèce à partir de l'ADN qu'elle laisse dans son environnement, en particulier pour l'écrevisse lors de la mue et de la reproduction.

Dans notre cas, en milieu courant, il s'agit d'effectuer une double filtration d'eau. Les éléments filtrés sont analysés par PCR, ou « Polymerase chain reaction », technique qui consiste à amplifier des cibles ADN spécifiques par réaction en chaîne par polymérase. Ceci permet de détecter plus facilement la présence d'un ADN donné même lorsqu'il n'est présent qu'en petites quantités.

Les prélèvements ADNe présentent l'avantage, contrairement aux prospections nocturnes, de pouvoir être effectués de jour par un seul agent.

Dans notre cas, nous avons choisi de cibler l'ADN de deux espèces : l'écrevisse à pattes blanche et la peste de l'écrevisse. Les prélèvements ont été effectués en octobre, lors de la saison de reproduction, de façon à maximiser la présence d'ADN d'écrevisses dans l'environnement.

Choix des stations

Le choix des stations est basé sur les résultats de l'étude effectuée en 2018 qui avait fait ressortir les points les plus significatifs au niveau de la qualité physico-chimique liés à la présence d'écrevisses à pattes blanches, à savoir :

- L'absence d'écrevisses invasives
- La température
- L'oxygène dissous
- Le taux de matière en suspension
- La conductivité
- Le pH

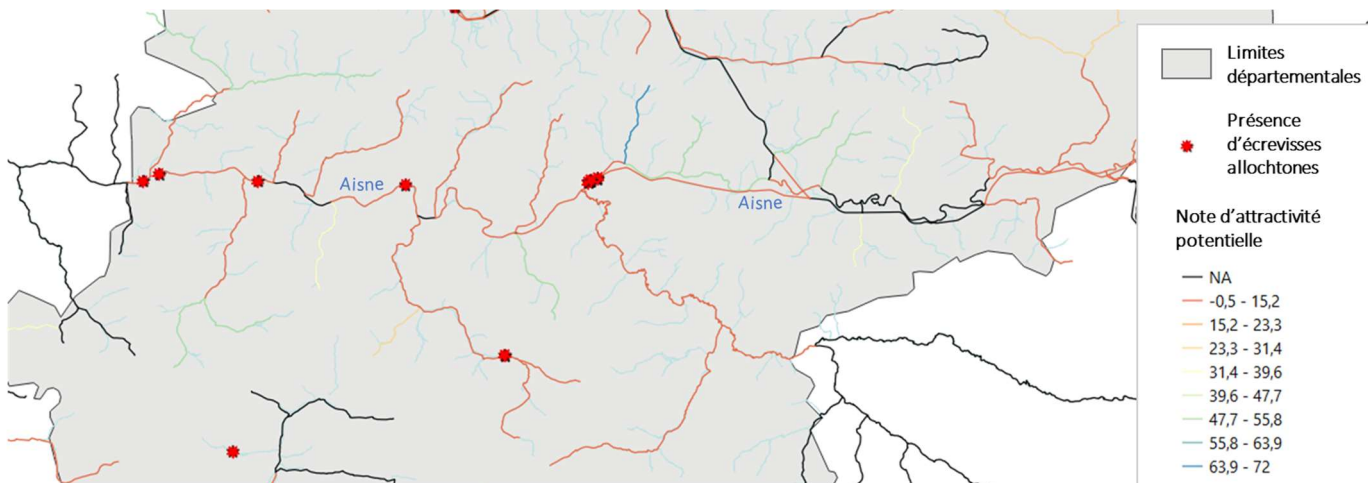
A partir des connaissances acquises et de la bibliographie, une note a été attribuée pour chaque paramètre :

Paramètre	Température	Conductivité	pH	O ₂	MES	Ecrevisses invasives	A. Astacii (peste)
Code Sandre	1301	1303	1302	1311	1305		
Préférence	Certaine	Certaine	Certaine	Certaine	Certaine	Certaine	Certaine
Valeurs	Faibles	Faibles	Hautes	Hautes	Faibles	Nulle	Nulle
Unité	°C	µS·cm ⁻¹	-	mg.L ⁻¹	mg.L ⁻¹	individu	
Valeur-seuil	20	945	6	3,4	489	0	0
Note n _i							
4	<12	<350	>7,5	>10	<15		
3	13-15	350-400	7-7,5	8,5-10	15-35		
2	15-17	400-500	6,5-7	7-8,5	35-180		
1	18-20 ou NA	500-945 ou NA	6-6,5 ou NA	3,5-7 ou NA	180-489 ou NA	Absence	Absence
0	>20	>945	<6	<3,5	489	Présence	Présence

Cela permet, pour un cours d'eau, d'obtenir une note globale d'« intérêt potentiel APP » à partir de la formule suivante :

$$Note\ totale\ ruisseau_i = \prod_i^1 n_i$$

Les valeurs de ces paramètres ont ensuite été extraits pour les cours d'eau de l'Aisne à partir de Naïades, ce qui nous a permis d'obtenir une carte des notes d'intérêts potentiels à l'échelle du département :

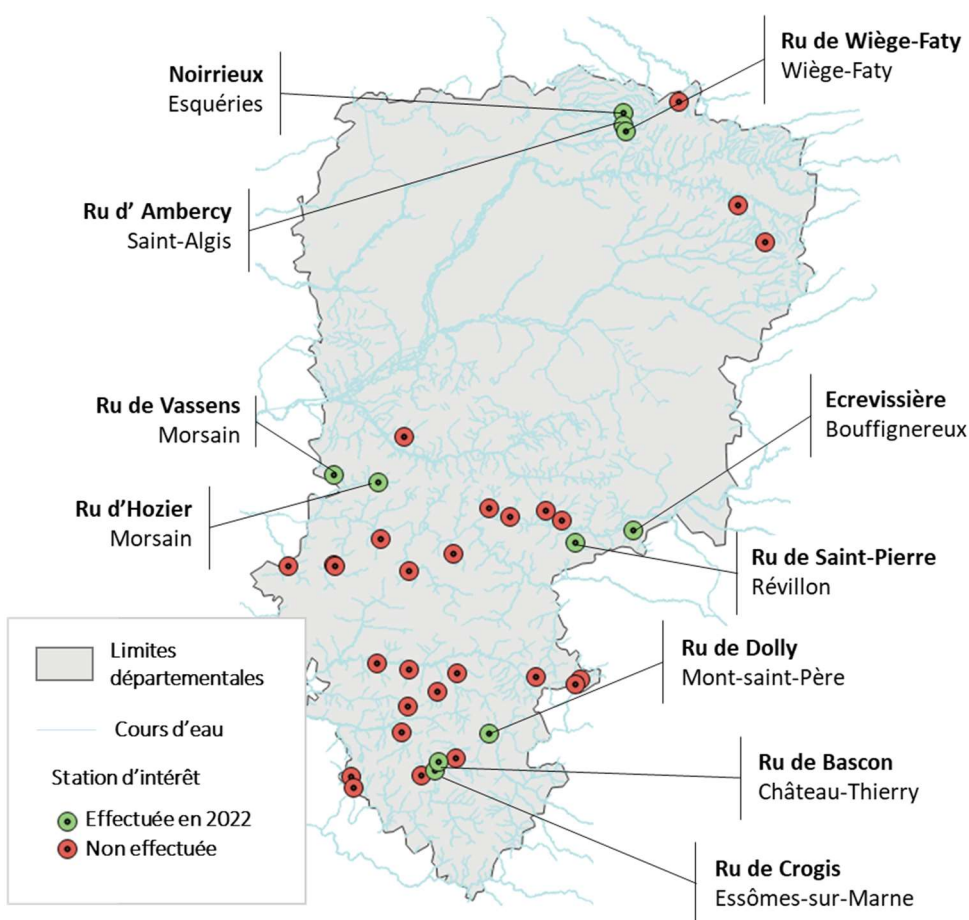


Exemple des notes d'intérêt potentiel sur le bassin de l'Aisne

Ces résultats ont été croisés avec la présence de seuils (ROE ou connaissances de terrain) dont nous avons constaté qu'ils pouvaient être à l'origine d'une séparation entre les population allochtones et autochtones.

Une carte globale des stations d'intérêt a ainsi été obtenue, grâce à laquelle on a pu mettre en avant les 37 stations qui semblaient avoir le plus de potentiel dans le département. Parmi ces stations, 10 ont été choisies pour être analysées en 2022 :

Carte des stations d'intérêt identifiées et stations où l'analyse ADNe a été effectuée en 2022



Résultats et perspectives

Résultats des détections pour *A. pallipes* :

<i>Site</i>	<i>Date de prélèvement</i>	<i>Coordonnées du point de prélèvement (WGS 84)</i>	<i>Détection de l'ADN de l'espèce cible</i>	<i>Nombre de répliquats positifs</i>
Ambercy	13/10/2022	(49,902295 ; 3,808084)	NON	0/12
Ambercy	13/10/2022	(49,902295 ; 3,808084)	NON	0/12
Bascon	17/10/2022	(49,046148 ; 3,381238)	NON	0/12
Bascon	17/10/2022	(49,046148 ; 3,381238)	NON	0/12
Dolly	17/10/2022	(49,074024 ; 3,495492)	OUI	2/12
Dolly	17/10/2022	(49,074024 ; 3,495492)	OUI	3/12
Ecrevissière	18/10/2022	(49,386657 ; 3,840631)	NON	0/12
Ecrevissière	18/10/2022	(49,386657 ; 3,840631)	NON	0/12
Hozier	19/10/2022	(49,452728 ; 3,192987)	NON	0/12
Hozier	19/10/2022	(49,452728 ; 3,192987)	NON	0/12
Noirrieu	13/10/2022	(49,988839 ; 3,780951)	NON	0/12
Noirrieu	13/10/2022	(49,988839 ; 3,780951)	NON	0/12
Rochers	17/10/2022	(49,03145 ; 3,370614)	NON	0/12
Rochers	17/10/2022	(49,03145 ; 3,370614)	NON	0/12
St-Pierre	17/10/2022	(49,374361 ; 3,698308)	NON	0/12
St-Pierre	17/10/2022	(49,374361 ; 3,698308)	NON	0/12
Vassens	19/10/2022	(49,454913 ; 3,175762)	OUI	1/12
Vassens	19/10/2022	(49,454913 ; 3,175762)	OUI	1/12
Wiege-Faty	13/10/2022	(49,878446 ; 3,72381)	NON	0/12
Wiege-Faty	13/10/2022	(49,878446 ; 3,72381)	NON	0/12

Résultats des détections pour *Aphanomyces astaci* (peste de l'écrevisse) :

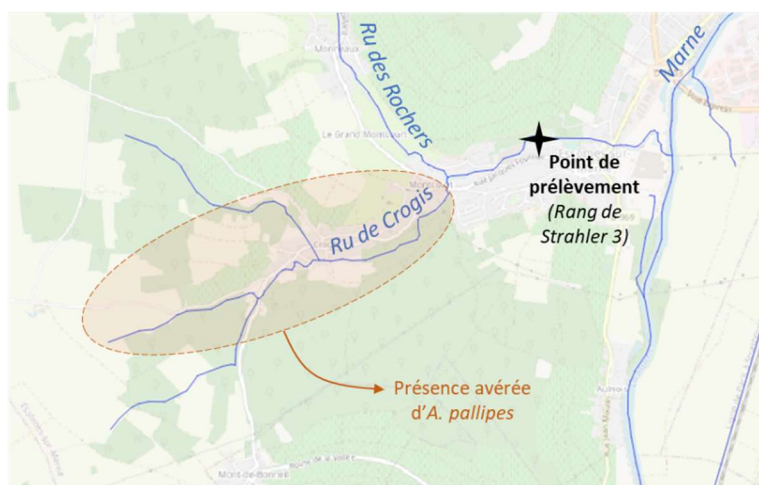
<i>Site</i>	<i>Date</i>	<i>Coordonnées du point de prélèvement (WGS 84)</i>	<i>Détection de l'ADN de l'espèce cible</i>	<i>Nombre de répliquats positifs</i>
Ambercy	13/10/2022	(49,902295 ; 3,808084)	NON	0/12
Ambercy	13/10/2022	(49,902295 ; 3,808084)	NON	0/12
Bascon	17/10/2022	(49,046148 ; 3,381238)	NON	0/12
Bascon	17/10/2022	(49,046148 ; 3,381238)	NON	0/12
Dolly	17/10/2022	(49,074024 ; 3,495492)	NON	0/12
Dolly	17/10/2022	(49,074024 ; 3,495492)	NON	0/12
Ecrevissière	18/10/2022	(49,386657 ; 3,840631)	OUI	12/12
Ecrevissière	18/10/2022	(49,386657 ; 3,840631)	OUI	10/12
Hozier	19/10/2022	(49,452728 ; 3,192987)	NON	0/12
Hozier	19/10/2022	(49,452728 ; 3,192987)	NON	0/12
Noirrieu	13/10/2022	(49,988839 ; 3,780951)	NON	0/12
Noirrieu	13/10/2022	(49,988839 ; 3,780951)	NON	0/12
Rochers	17/10/2022	(49,03145 ; 3,370614)	NON	0/12
Rochers	17/10/2022	(49,03145 ; 3,370614)	NON	0/12
St-Pierre	17/10/2022	(49,374361 ; 3,698308)	NON	0/12
St-Pierre	17/10/2022	(49,374361 ; 3,698308)	NON	0/12
Vassens	19/10/2022	(49,454913 ; 3,175762)	NON	0/12
Vassens	19/10/2022	(49,454913 ; 3,175762)	NON	0/12
Wiege-Faty	13/10/2022	(49,878446 ; 3,72381)	NON	0/12
Wiege-Faty	13/10/2022	(49,878446 ; 3,72381)	NON	0/12

Les prélèvements ont été effectués en régie entre le 17 et le 20 octobre, puis analysés par le bureau d'étude Spygen.

Ils ont permis de mettre en évidence **deux ruisseaux où l'écrevisse à pattes blanches serait présente : le Ru de Dolly à Mont-Saint-Père et le Ru de Vassens à Morsain. Il s'agit donc de deux nouvelles stations qui porte à 7 le nombre de stations à *A. pallipes* sur le département.**

En revanche, **la peste de l'écrevisse a été mise en évidence sur l'Ecrevissière à Bouffignereux**, ce qui suggère que les signalements d'écrevisses à ces endroits correspondent probablement à des écrevisses allochtones.

Ces résultats semblent robustes puisque les deux échantillons effectués sur chaque ruisseau montrent les mêmes résultats. Il semble donc que la méthode soit intéressante pour détecter la présence des espèces dans nos cours d'eau.



Prélèvement sur le Ru des Rochers à 1km en aval de la station *A. pallipes* de Crogis

Un prélèvement qui avait été placé sur le Ru des Rochers à environ 1 km en aval de la confluence avec le Ru de Crogis est cependant négatif, ce qui peut indiquer que dans nos conditions d'échantillonnage, la portée de détection ne soit pas très élevée. Il faut tout de même noter que la population ayant fortement régressé, la quantité d'ADN dans l'environnement est plus faible et sa dilution plus importante.

Ainsi, il semble qu'il vaille mieux se limiter à des ruisseaux de faible débit (rang de Strahler 1 ou 2). De plus, il faut considérer qu'un prélèvement négatif n'indique pas forcément l'absence d'écrevisses en amont, celles-ci pouvant ne pas être détectables dans les conditions d'échantillonnage.

Enfin, notons que pour un certain nombre de ruisseaux prélevés, le filtre s'est légèrement colmaté en fin filtration ce qui nous a amené à filtrer une moins grande quantité d'eau. Ceci a par exemple été le cas sur le ru des Rochers.

Ce problème est pris en compte dans l'analyse faite par Spygen.

Image : Fixation de l'ADNe sur le filtre à l'aide d'un tampon



Ces résultats sont très encourageants, et montrent que l'ADNe est une méthode prospective intéressante dans le cas de la détection d'*A. pallipes*. En revanche, il faut noter que les résultats indiquent une présence mais ne donnent aucun indice sur l'importance et l'état de santé des populations. Les deux méthodes (ADNe et prospections nocturnes) sont donc complémentaires.

Plusieurs questions sont soulevées par ces analyses, en particulier :

- Y a-t-il encore d'autres populations d'*A. pallipes* non détectées ailleurs sur le département ?
- La peste de l'écrevisse est-elle présente chez toutes les populations d'allochtones du département ?

En conclusion

La poursuite de cette étude des écrevisses dans notre département nous semble aujourd'hui plus que jamais importante, à la fois pour améliorer notre connaissance de leur répartition mais également pour pouvoir prendre en compte les enjeux plus larges qui leur sont liés (bio-indications, problèmes liés à l'arrivée d'EEE, etc.)

Plusieurs actions sont en cours ou le seront prochainement, parmi lesquelles nous pouvons citer :

- L'arrivée d'un stagiaire de Master 2 pour une analyse à l'échelle du bassin versant dans le cadre de la régression de la population de Crogis
- La veille systématique des données astaciques sur le département et dans les zones frontalières
- Une discussion en 2023 pour une communication et un échange entre les différentes structures de la région concernant des méthodes et des données sur les écrevisses
- La prospection nocturne des deux stations identifiées de manière à caractériser l'état de ces nouvelles populations