



Caractérisation de la phénologie du brochet via ADNe : Paolo Bernini FDAAPPMA 13 & Valentin Vasselon

SCIMABIO

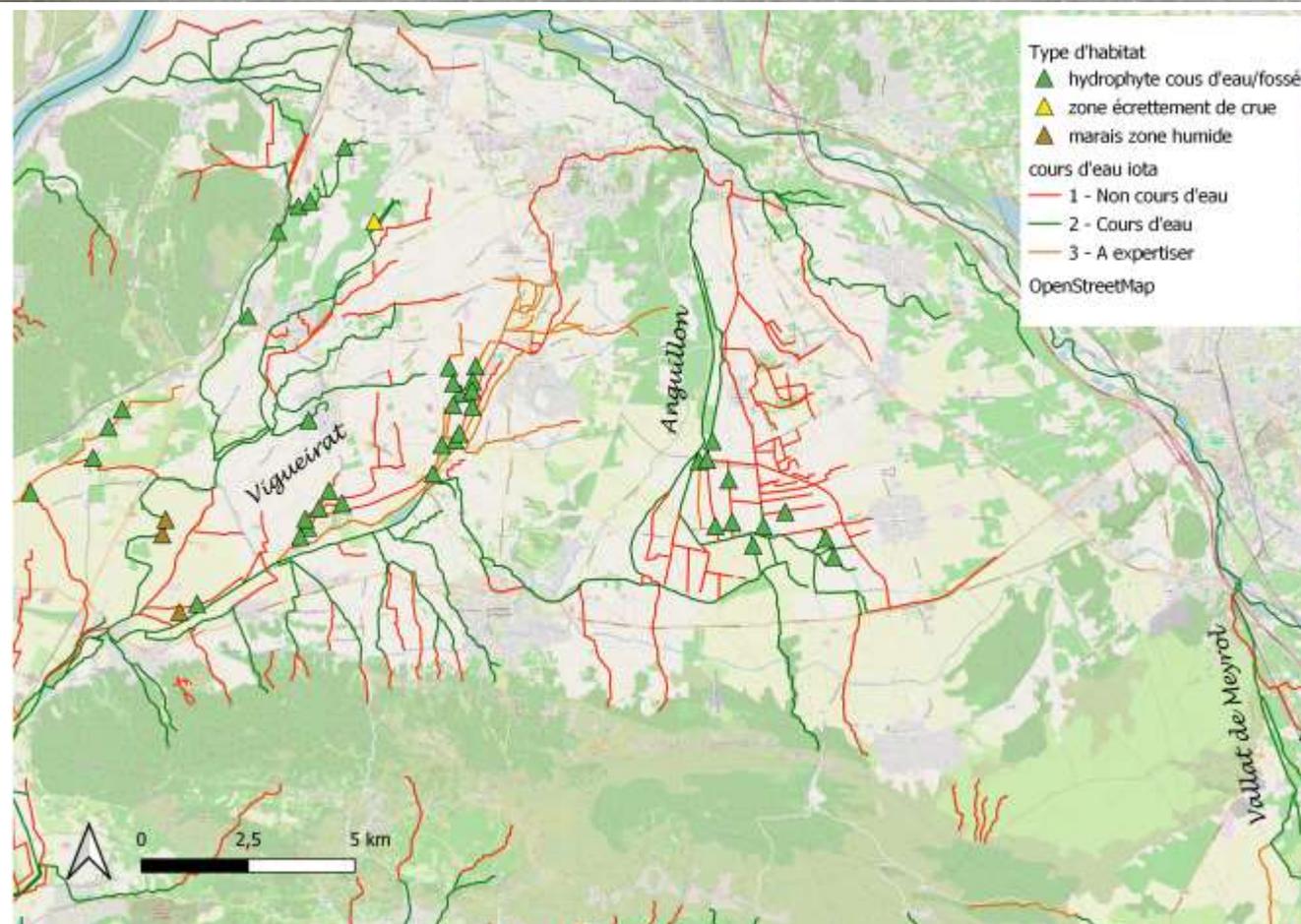


Contexte

• Contexte & problématique

- Réseau hydrographique complexe
- Forte anthropisation des bassins versants
- Évaluation des habitats
- Évaluation des continuités

=> Note fonctionnalité des frayères de substitution potentielle





Contexte

- Contexte & problématique

- Réseau hydrographique complexe
- forte anthropisation des bassins versants
- Evaluation des habitats
- Evaluation des continuités

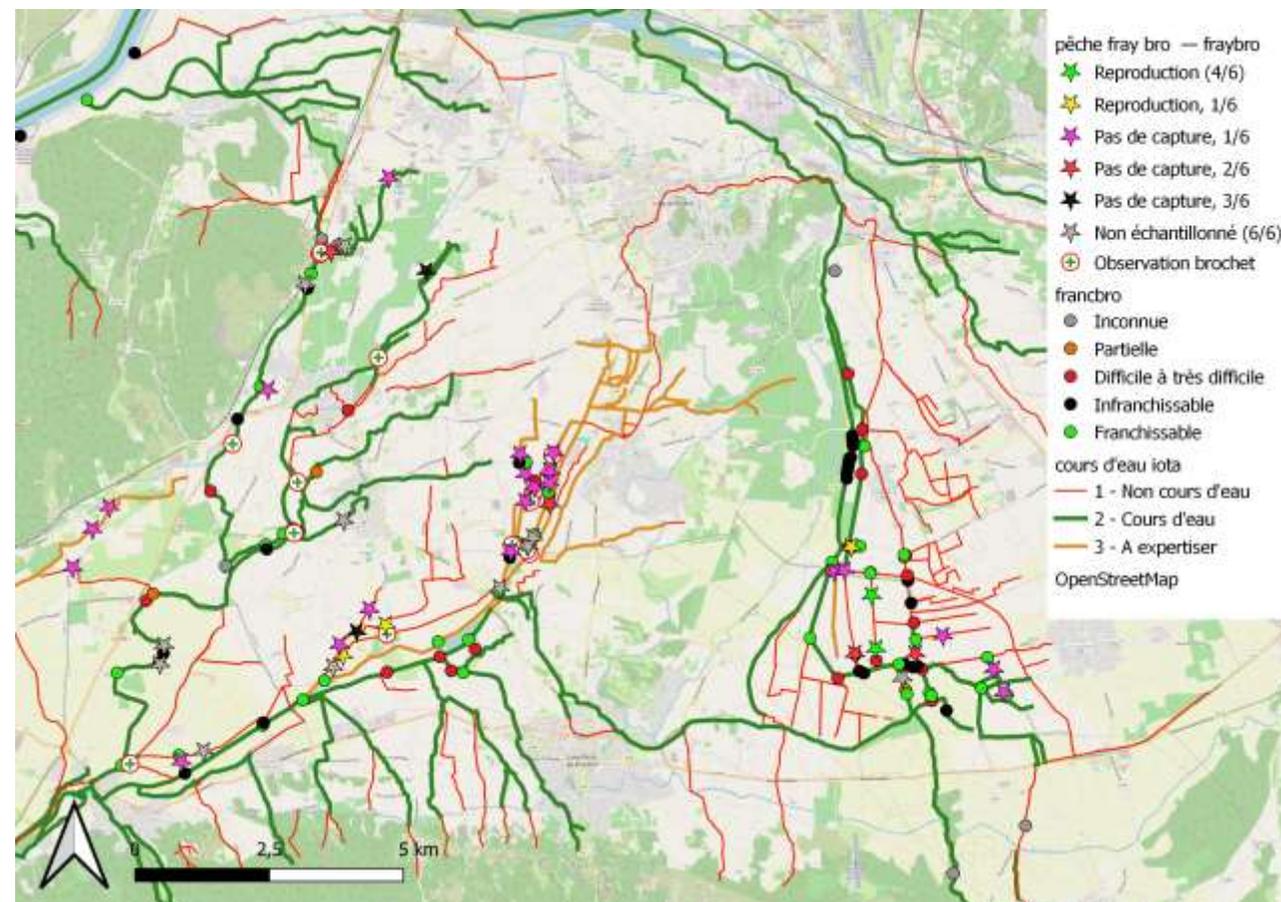
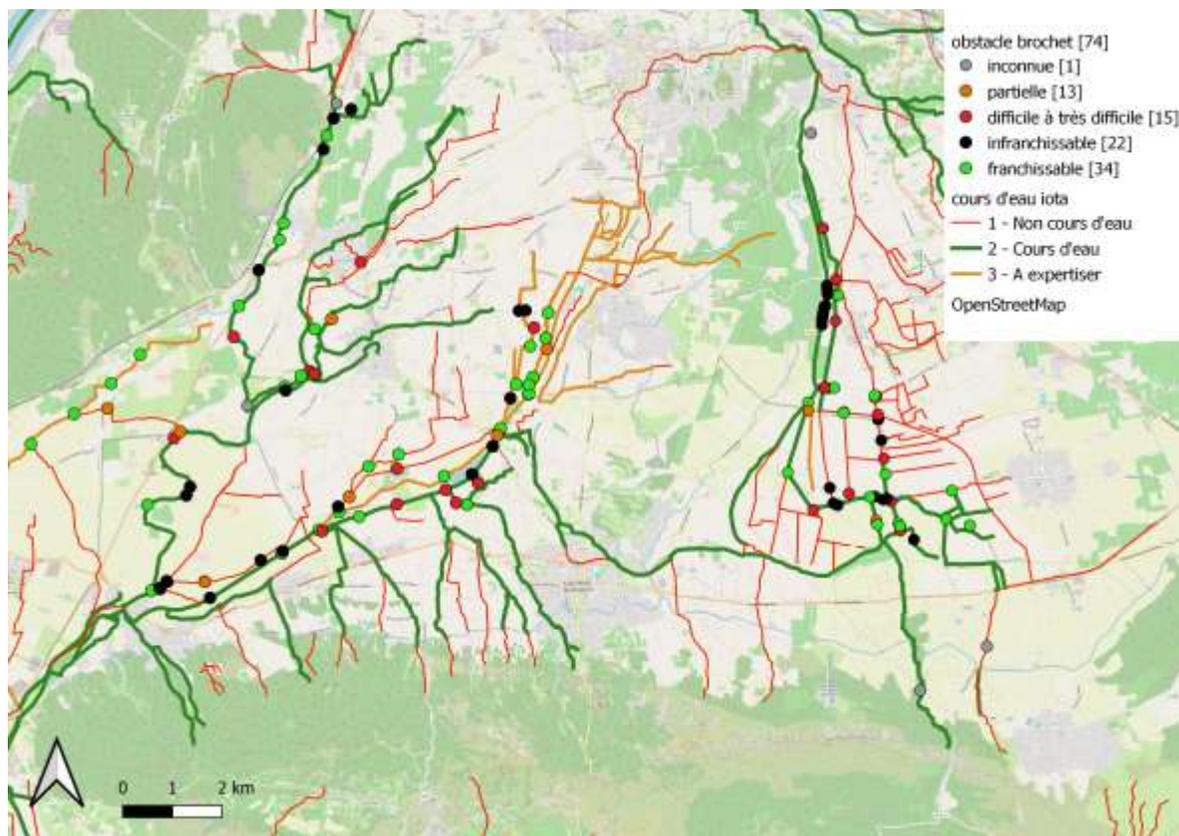
=> Note fonctionnalité des frayères de substitution potentielle





Contexte

- Contexte & problématique



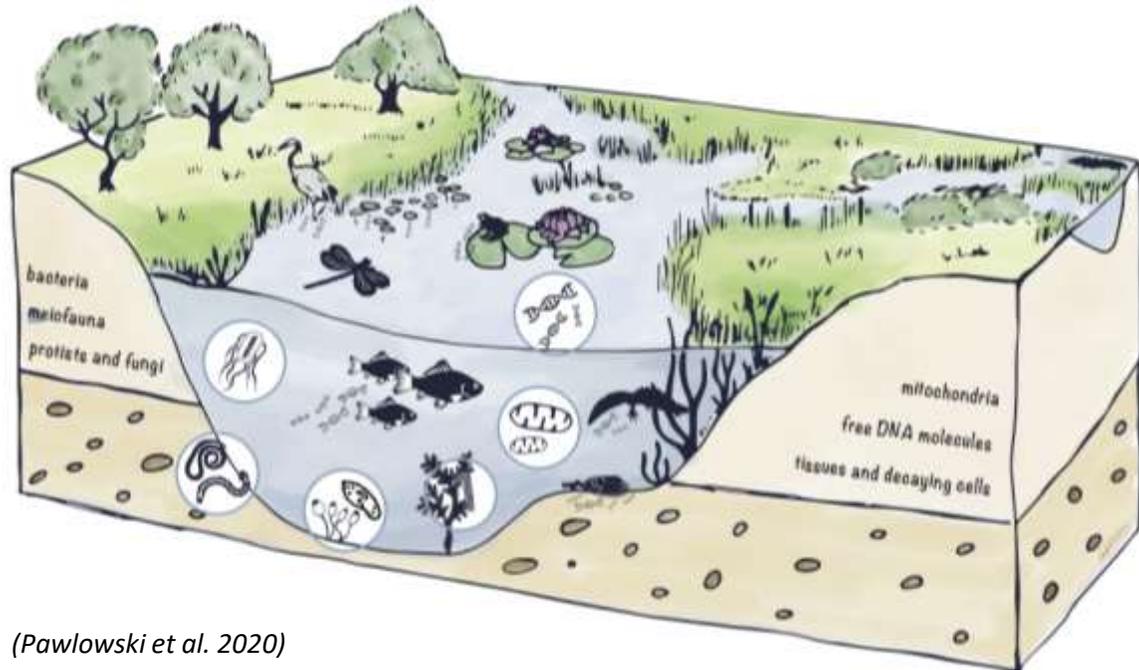
Quelles sont les zones de reproduction ? Et quelle est la phénologie de reproduction du Brochet dans ces milieux anthropisés ?



Contexte

- ADN environnemental

« ADN extrait à partir d'un échantillon environnemental (eau, sol, air, biofilm...) sans avoir à isoler au préalable les individus »



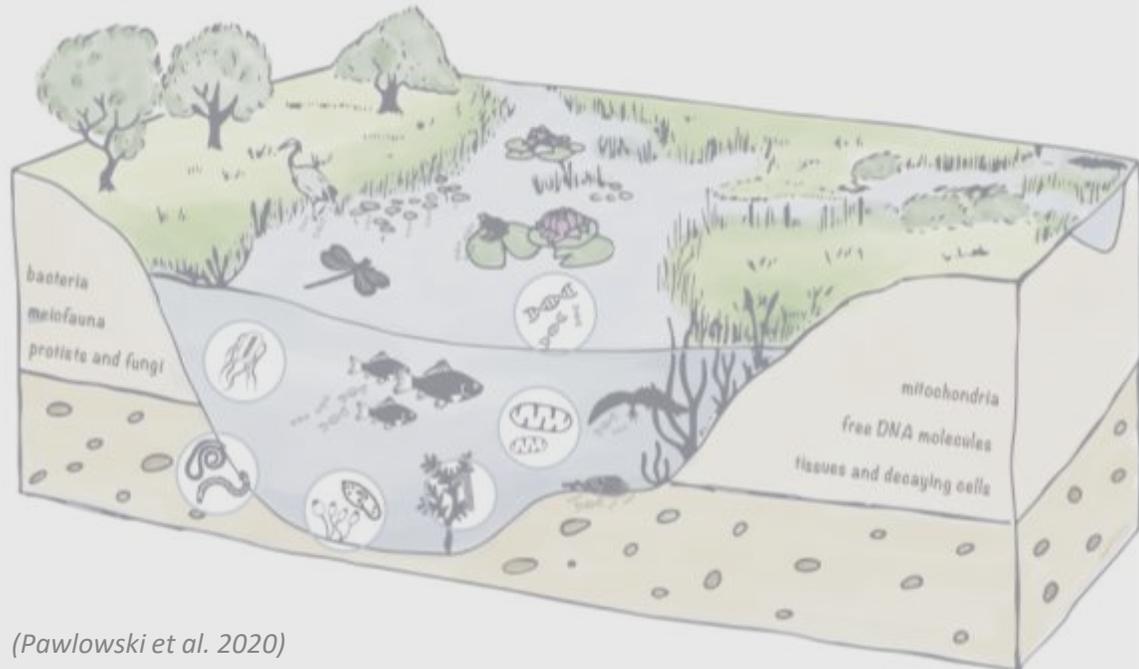
(Pawlowski et al. 2020)



Contexte

- ADN environnemental

« ADN extrait à partir d'un échantillon environnemental (eau, sol, air, biofilm...) sans avoir à isoler au préalable les individus »



Échantillon d'eau

filtrée

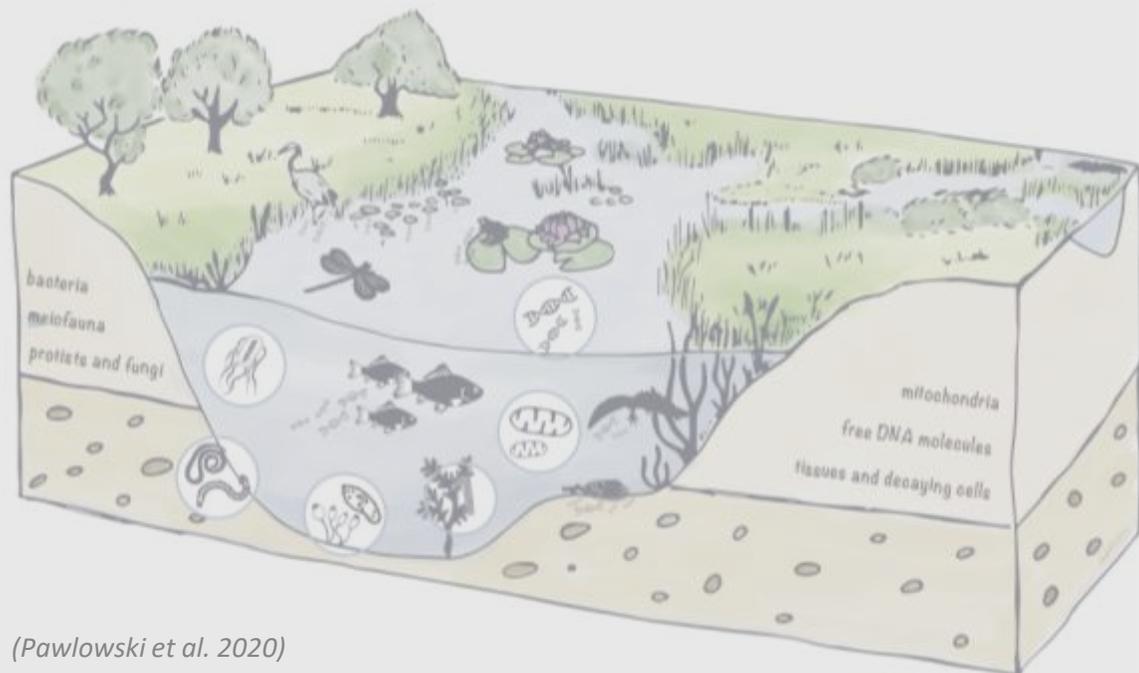




Contexte

- ADN environnemental

« ADN extrait à partir d'un échantillon environnemental (eau, sol, air, biofilm...) sans avoir à isoler au préalable les individus »



(Pawlowski et al. 2020)

Échantillon d'eau

filtrée



(Bruce et al. 2021)

Extrait ADN total

Séquençage



+ PCR

- PCR

Métabarcoding
(Diversité)

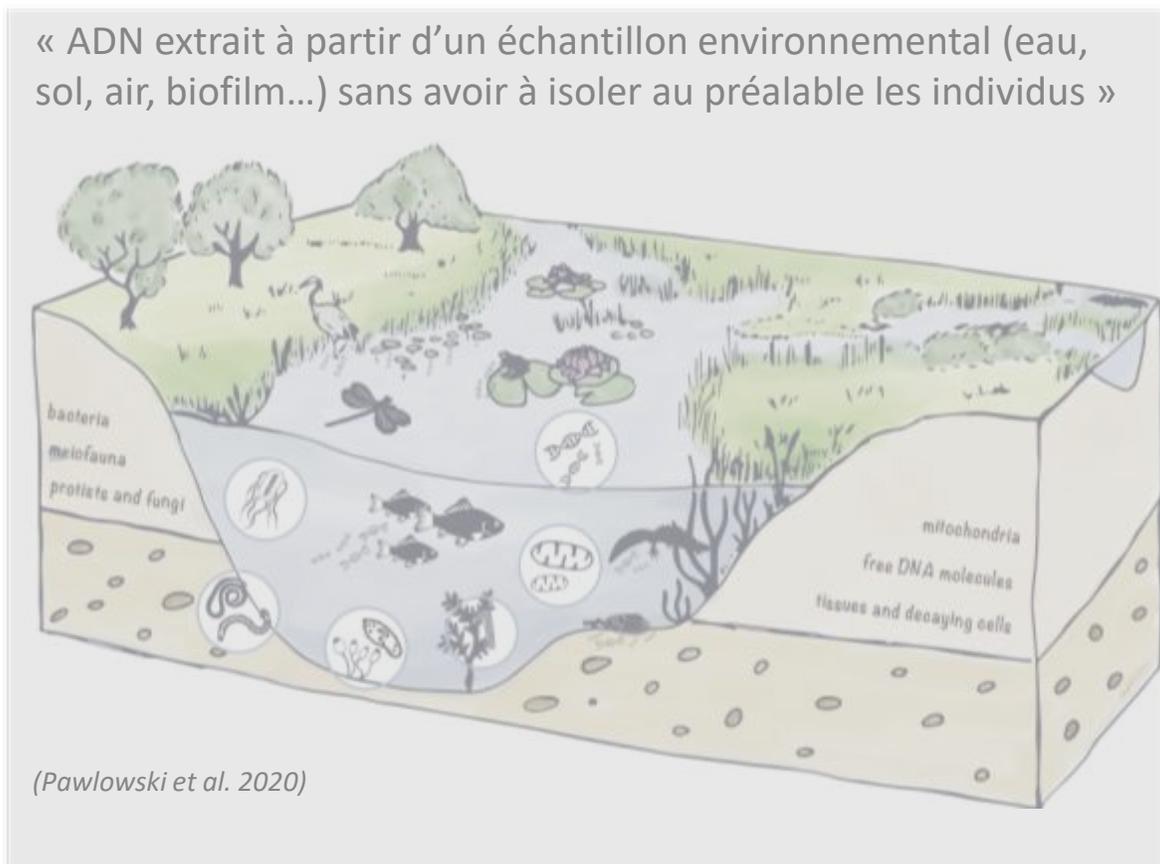
Métagénomique
(Fonctionnalité)



Contexte

- ADN environnemental

« ADN extrait à partir d'un échantillon environnemental (eau, sol, air, biofilm...) sans avoir à isoler au préalable les individus »



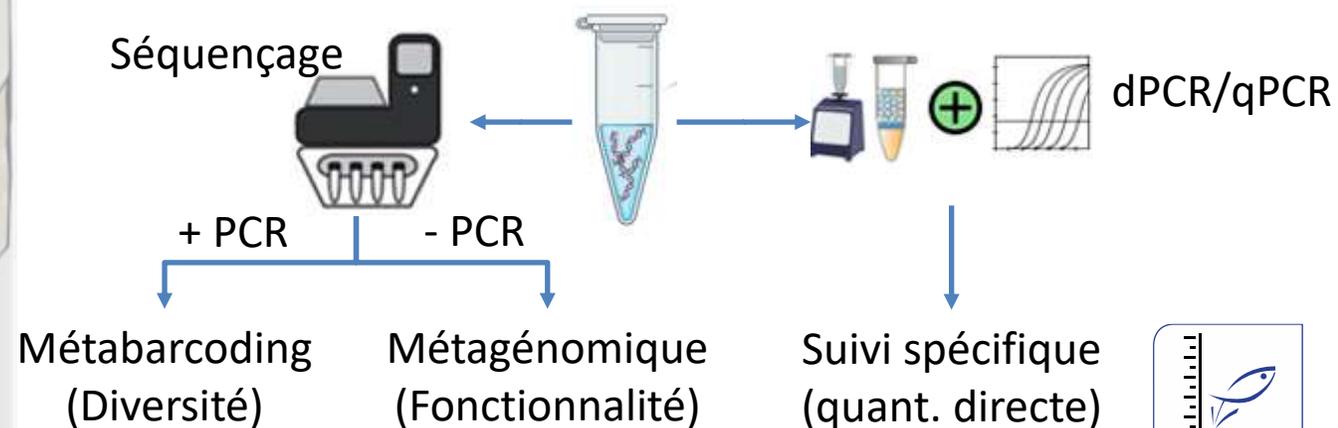
Échantillon d'eau

filtrée



(Bruce et al. 2021)

Extrait ADN total

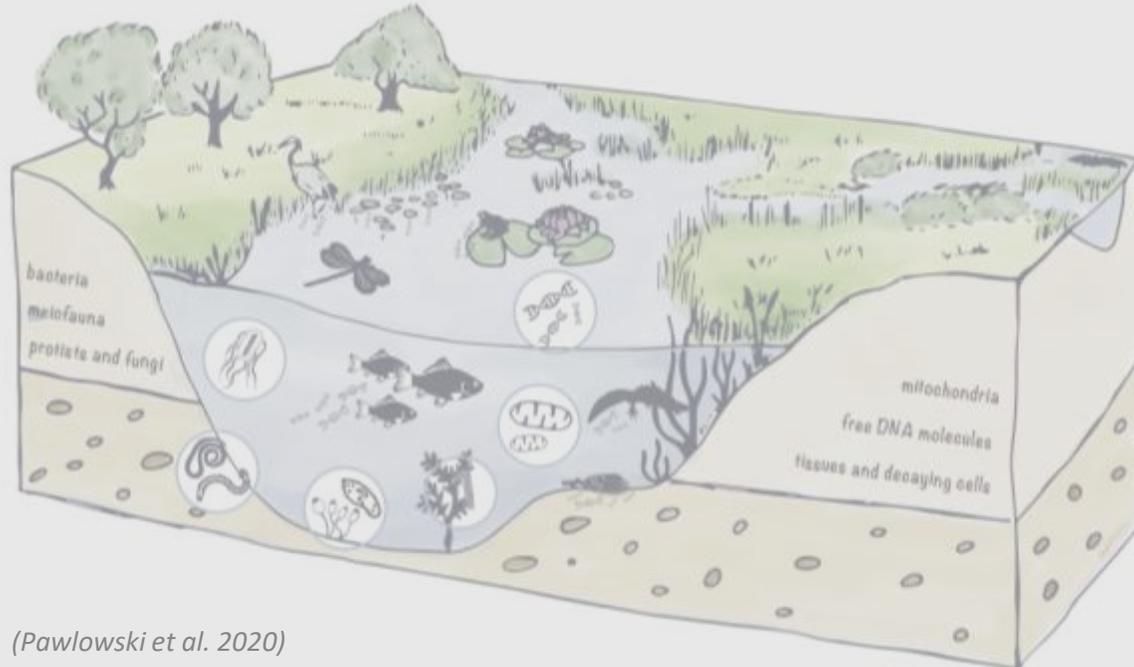




Contexte

- ADN environnemental

« ADN extrait à partir d'un échantillon environnemental (eau, sol, air, biofilm...) sans avoir à isoler au préalable les individus »



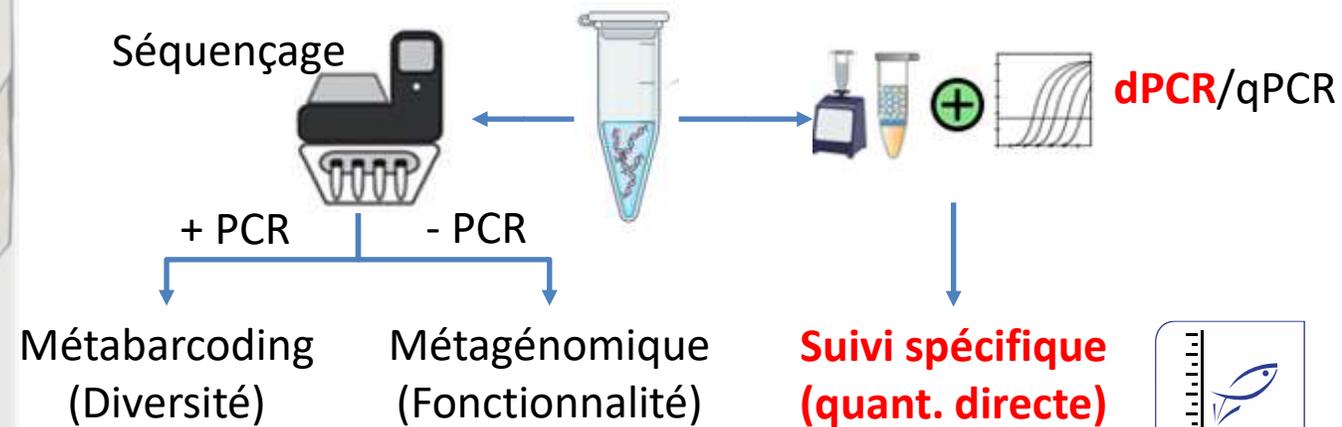
Échantillon d'eau

filtrée



(Bruce et al. 2021)

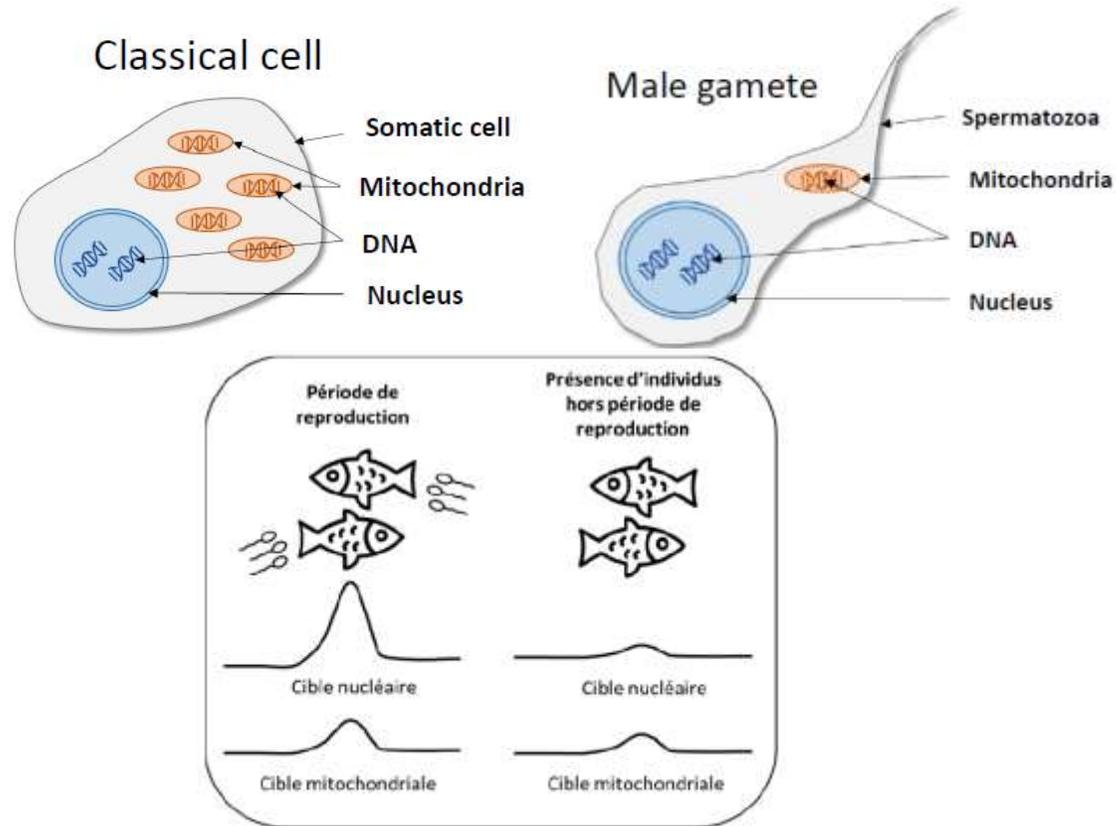
Extrait ADN total





Contexte

- ADN environnemental et phénologie de reproduction

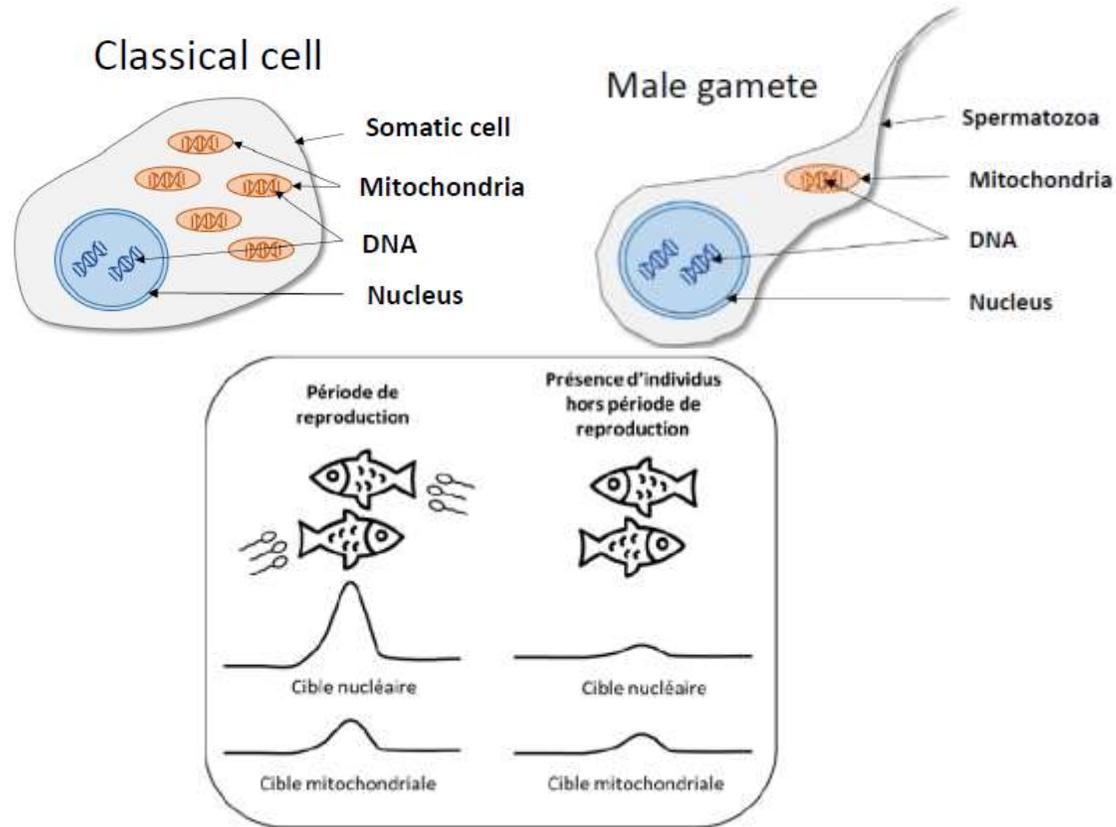


(credit: Marine Vautier)



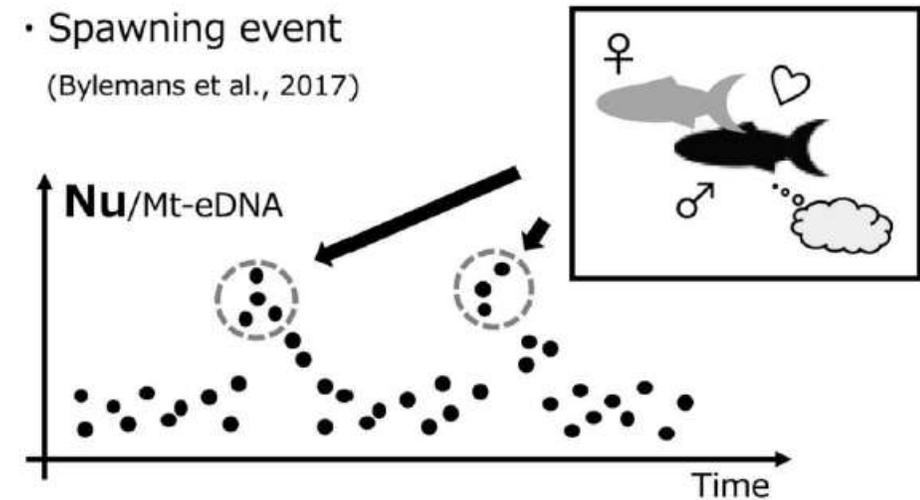
Contexte

- ADN environnemental et phénologie de reproduction



(credit: Marine Vautier)

- Spawning event (Bylemans et al., 2017)



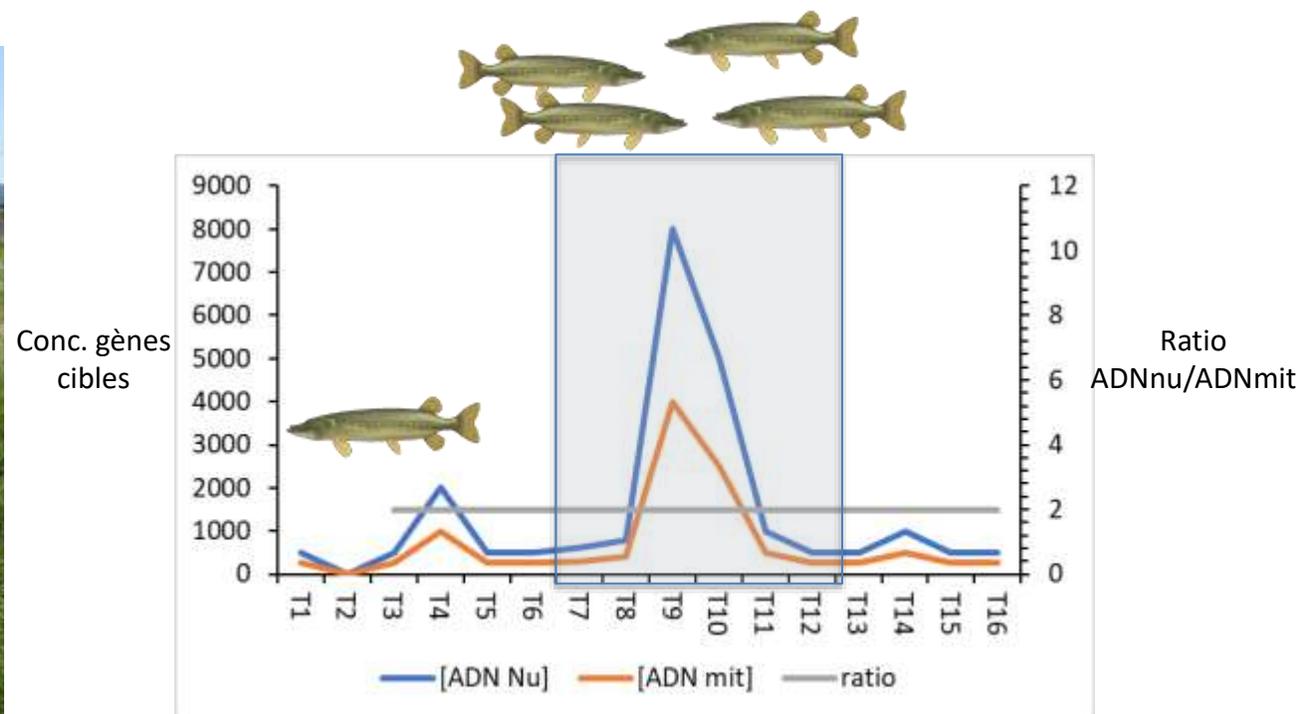
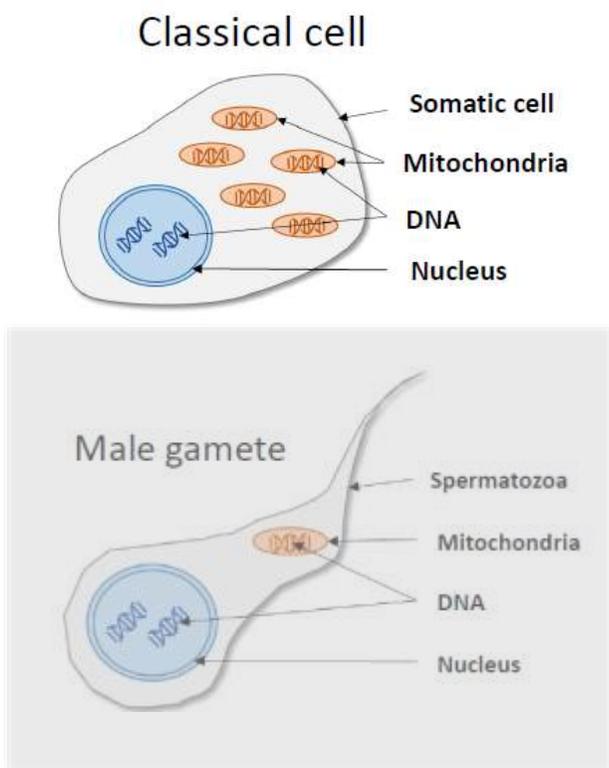
- Ration ADN nucléaire / ADN mitochondrial
- Discrimination de l'accouplement par les gamètes libérés



Contexte

- ADN environnemental et phénologie de reproduction

Suivi temporel ADNe



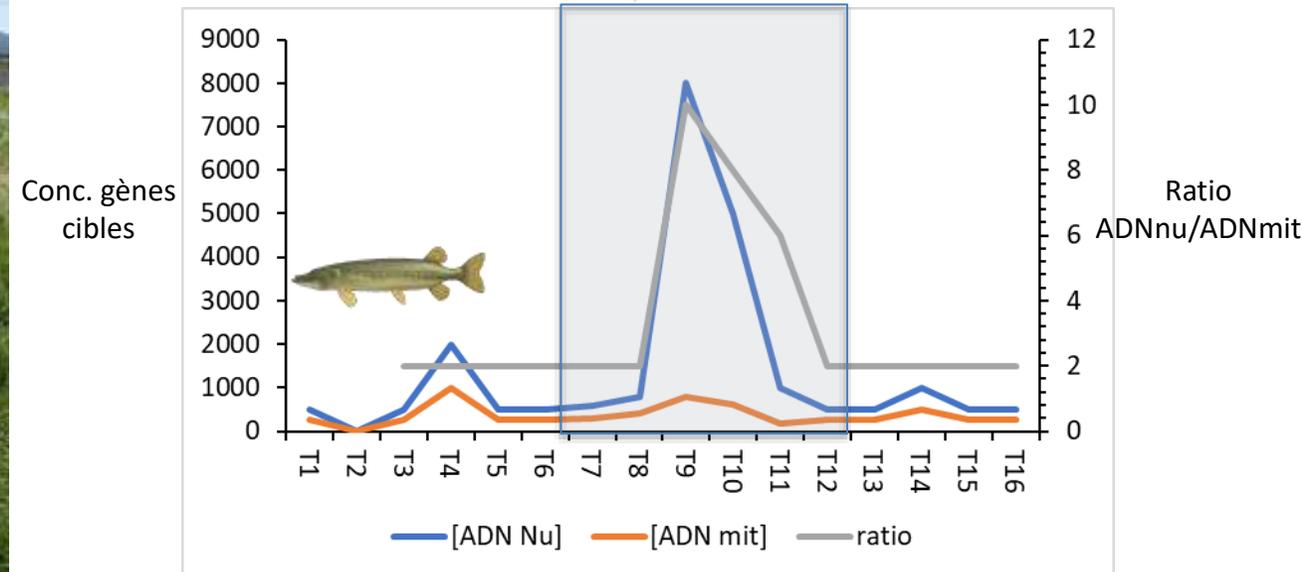
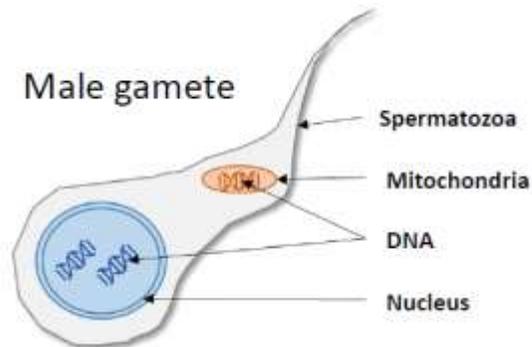
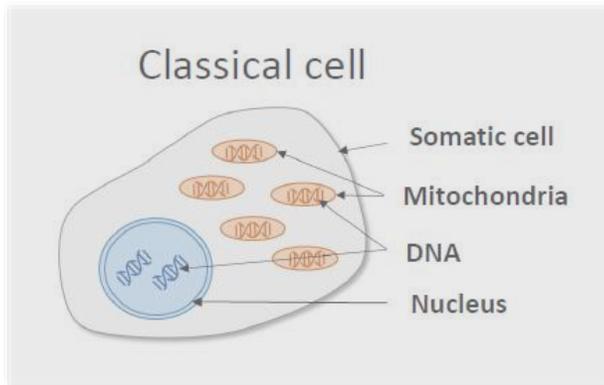
- Comportement de regroupement



Contexte

- ADN environnemental et phénologie de reproduction

Suivi temporel ADNe



- Comportement de regroupement
- Relargage de gamètes mâles



Matériel et méthode

• Sélection des stations

Définition de station potentiellement favorable à la reproduction :

- Connexion
- Alimentation
- Habitat
- Observation de brochet
- Accès
- Classe IOTA





Matériel et méthode

• Sélection des stations

Définition de station potentiellement favorable à la reproduction :

- Connexion
- Alimentation
- Habitat
- Observation de brochet
- Accès
- Classe IOTA





Matériel et méthode

- Matériel et méthode : protocole ADNe

8 stations
Fiche descriptive station
3 réplicas prélèvement
Suivis ponctuels ou
Suivis temporels



Site de
prélèvement

1

Méthode d'échantillonnage
et de filtration

2



3

Condition de
préservation

2 mL Solution MC1
(Chlorure de Magnésium,
Macherey-Nagel)

Filtrations sur le terrain
3 Filtres Sterivex 0,45µM
(600 mL à 2L d'eau filtrés sur l'étude,
variable selon les dates et la turbidité)



Matériel et méthode

- Matériel et méthode : protocole ADNe

8 stations
Fiche descriptive station
3 réplicas prélèvement
Suivis ponctuels ou
Suivis temporels



Méthode d'échantillonnage
et de filtration



Automate Magnetapure32
(Kit Nucleomag Water, Macherey-Nagel)

Site de
prélèvement



Extraction
d'ADN

Dosage
NanoDrop



Dosage ADN
total extrait
(ng.μL⁻¹)

1

2

3

4

Condition de
préservation

2 mL Solution MC1
(Chlorure de Magnésium,
Macherey-Nagel)



Matériel et méthode

• Matériel et méthode : protocole ADNe

8 stations
Fiche descriptive station
3 réplicas prélèvement
Suivis ponctuels ou
Suivis temporels



Méthode d'échantillonnage et de filtration



Filtrations sur le terrain
3 Filtres Sterivex 0,45µM
(600 mL à 2L d'eau filtrés sur l'étude, variable selon les dates et la turbidité)

Automate Magnetapure32
(Kit Nucleomag Water, Macherey-Nagel)

Site de prélèvement



Extraction d'ADN



Détections spécifiques
(ddPCR QX600 Biorad)

ddPCR

Dosage NanoDrop



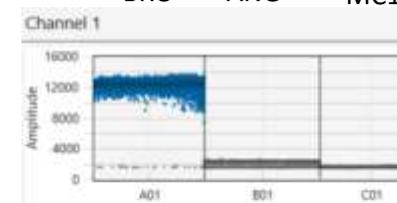
Dosage ADN total extrait
(ng.µL⁻¹)

Condition de préservation

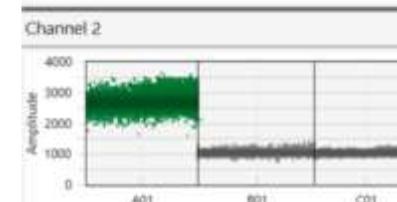
2 mL Solution MC1
(Chlorure de Magnésium, Macherey-Nagel)

Contrôle + Contrôle -

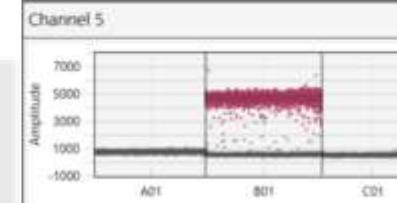
ADN Tissu Sol.
BRO ANG MC1



BRO mit (COI)
(fluorescence FAM)



BRO nuc (ITS1)
(fluorescence HEX)



A. anguila
(fluorescence ROX
C+ environnemental)

(Vautier et al. 2022)



Matériel et méthode

• Matériel et méthode : protocole ADNe

11 stations
Fiche descriptive station
3 réplicas prélèvement
Suivis ponctuels ou
Suivis temporels



Méthode d'échantillonnage et de filtration



Automate Magnetapure32
(Kit Nucleomag Water, Macherey-Nagel)

Site de
prélèvement



Extraction
d'ADN



Détectons spécifiques
(ddPCR QX600 Biorad)

ddPCR

Dosage
NanoDrop



Dosage ADN
total extrait
(ng.μL⁻¹)

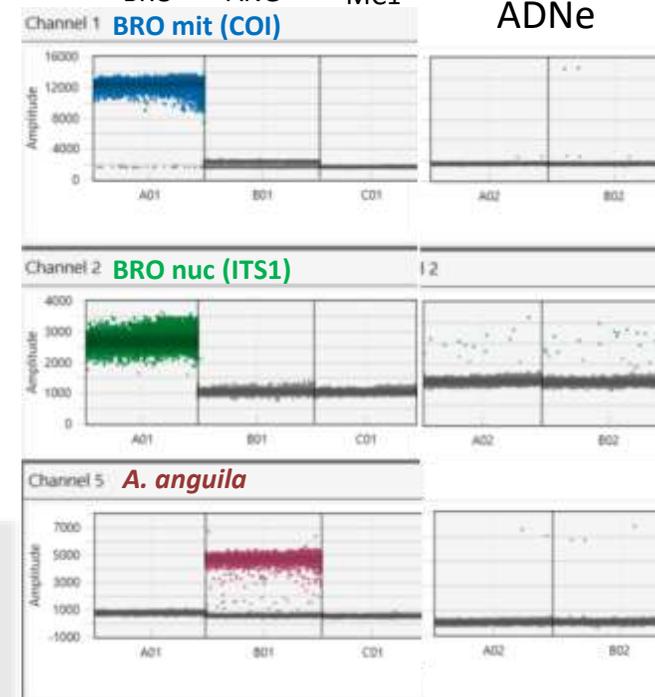
Condition de
préservation

2 mL Solution MC1
(Chlorure de Magnésium,
Macherey-Nagel)

Contrôle + Contrôle –

ADN Tissu Sol.
BRO ANG MC1

Exemples
ADNe



Filtrations sur le terrain
3 Filtres Sterivex 0,45μM
(600 mL à 2L d'eau filtrés sur l'étude,
variable selon les dates et la turbidité)



Matériel et méthode

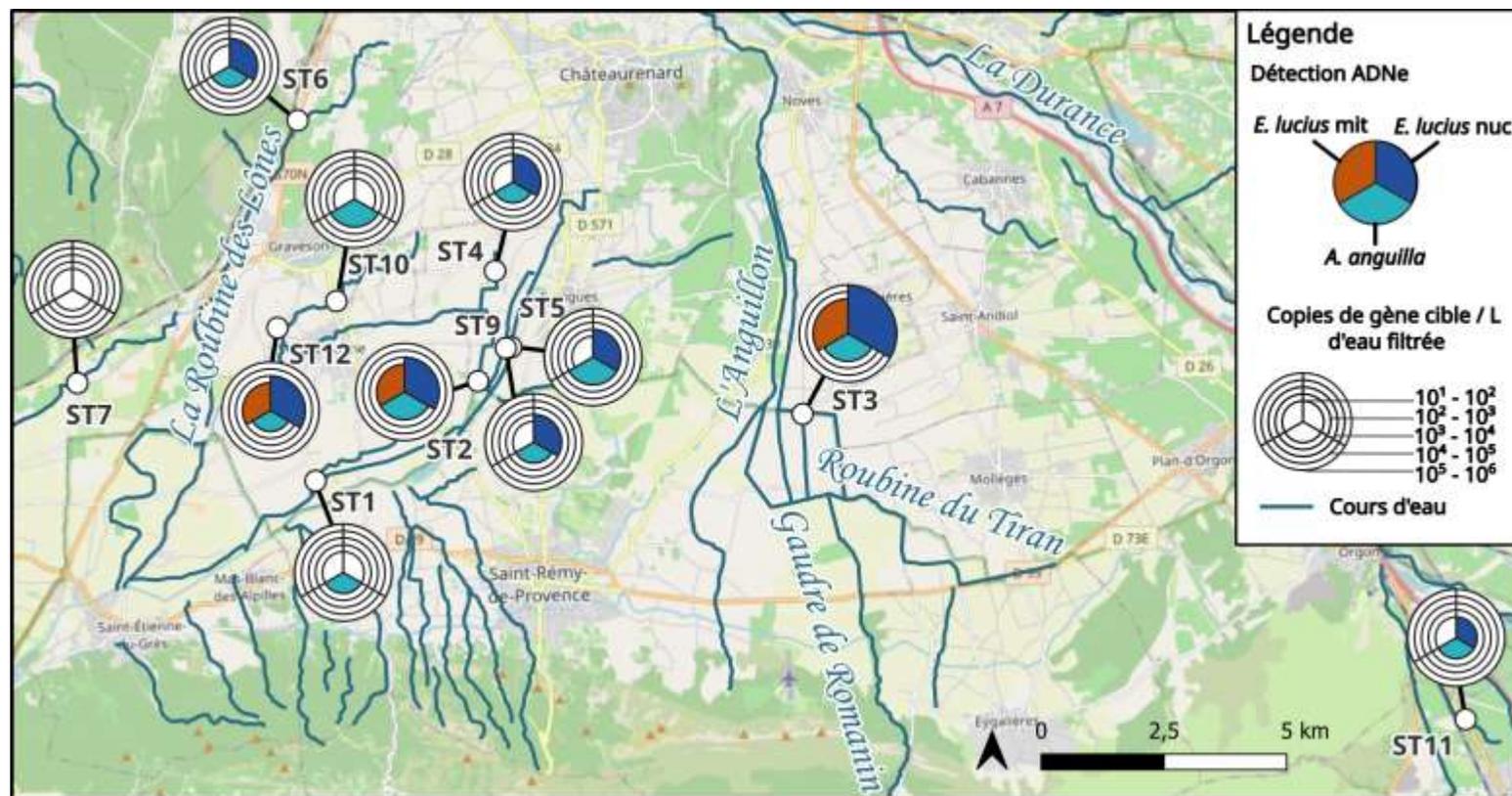
• Campagne Test

Définition de stations potentiellement favorables à la reproduction :

- ADNe Anguille pour la calibration
- One shot : 8/11 station positif au brochet
- Sélection des stations d'intérêt
 - (St 1 ; 2 ; 3 ; 6) suivi temporelles
 - (St 5 ; 9 ; 11 ; 10) suivi ponctuel

Définition de protocole de suivi :

- Période : Mi-janvier à fin avril = reproduction
- Suivi de 4 stations temporelles (1/semaine)
- Suivi de 4 stations ponctuelles (1/mois)

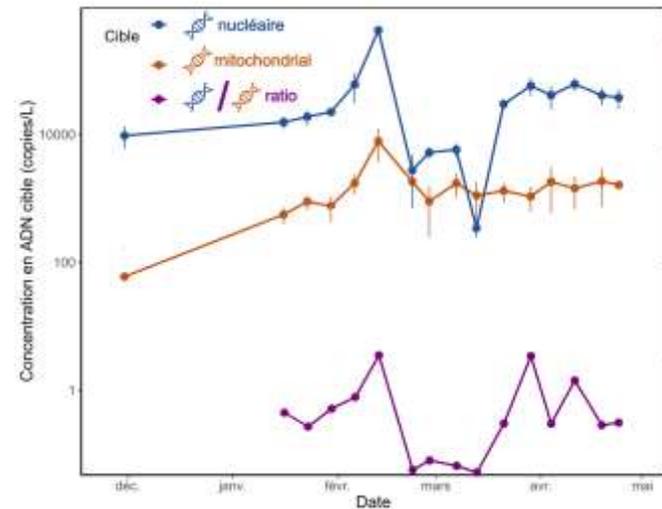




Résultat

- Stations en suivi temporelle

Station 3



Station connue pour la reproduction

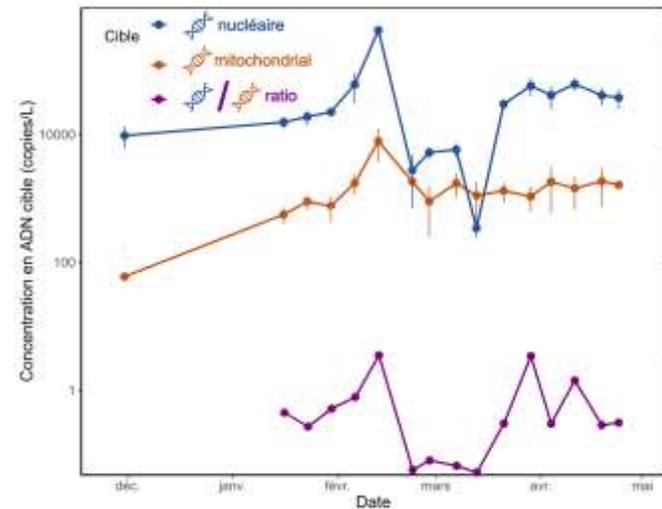
- Brochet sédentaire
- Signal d'activité de reproduction validé (début/mi-février)
- Signal Post- reproduction « anarchique »



Résultat

- Stations en suivi temporelle

Station 3



Station connue pour la reproduction

- Brochet sédentaire
- Signal d'activité de reproduction validé (début/mi-février)
- Signal Post- reproduction « anarchique »

Brochetons capturés par
pêche électrique le
23/05/2024

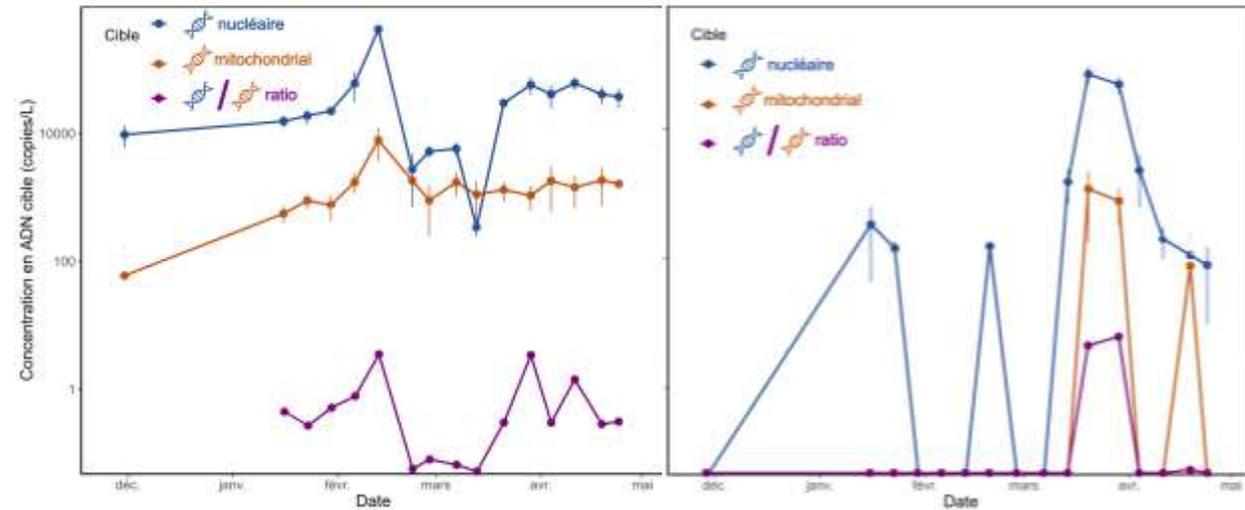


Résultat

- Stations en suivi temporelle

Station 3

Station 1



Brochetons capturés par
pêche électrique le
23/05/2024

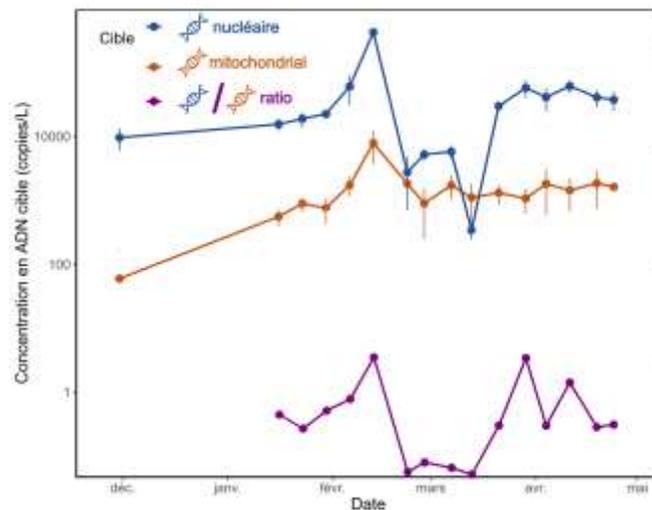
Brochet de passage + signal
d'action de reproduction
très à l'amont (2km)



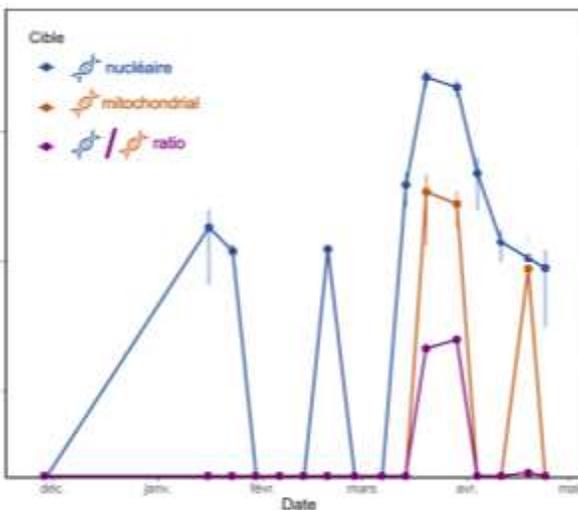
Résultat

- Stations en suivi temporelle

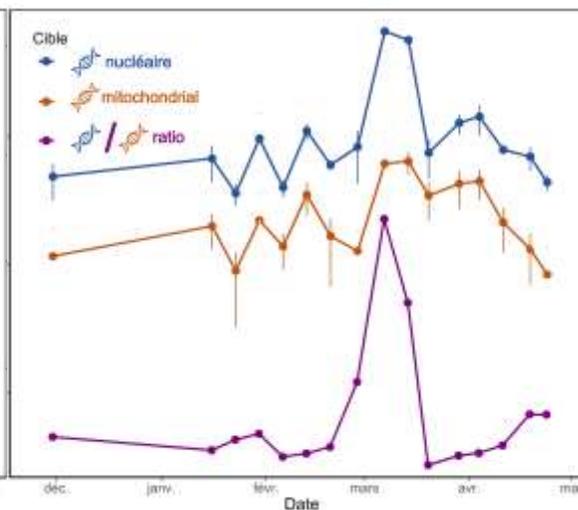
Station 3



Station 1



Station 2



Brochetons capturés par pêche électrique le 23/05/2024

Brochet de passage + signal d'action de reproduction très à l'amont (2km)

Brochet sédentaire + signal d'action de reproduction à l'amont direct (100-500m)



Résultat

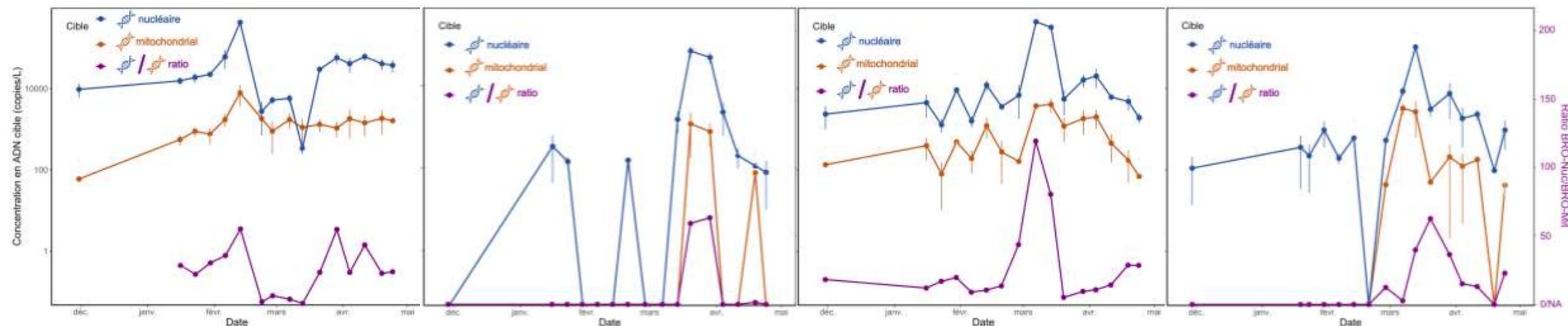
- Stations en suivi temporelle

Station 3

Station 1

Station 2

Station 6



Brochetons capturés par pêche électrique le 23/05/2024

Brochet de passage + signal d'action de reproduction très à l'amont (2km)

Brochet sédentaire + signal d'action de reproduction à l'amont direct (100-500m)

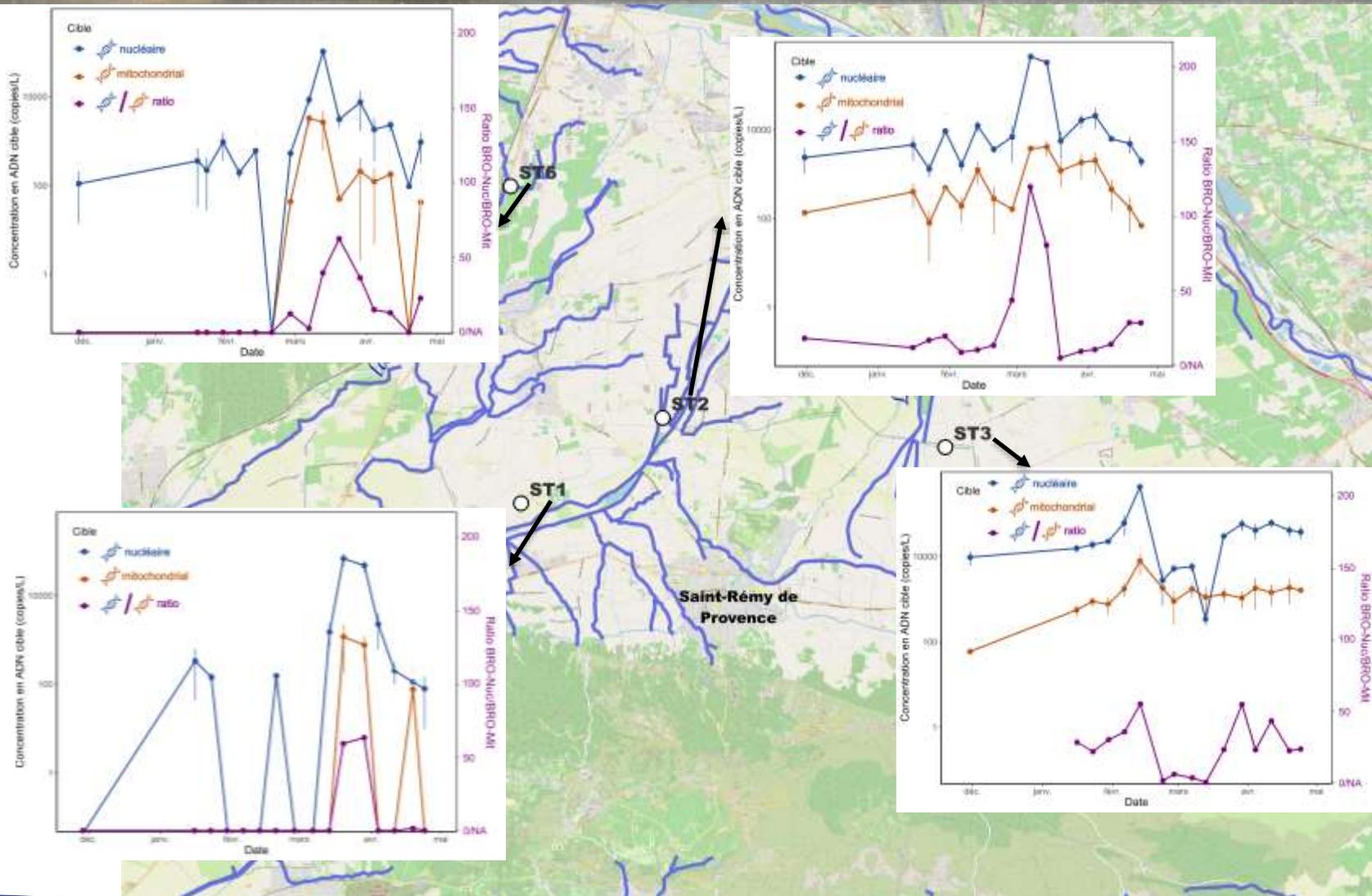
Brochet sédentaire + signal d'action de reproduction à l'amont direct (500m)

Stations avec fonctionnements distincts ?



Résultat

- Stations en suivi temporelle





Résultat

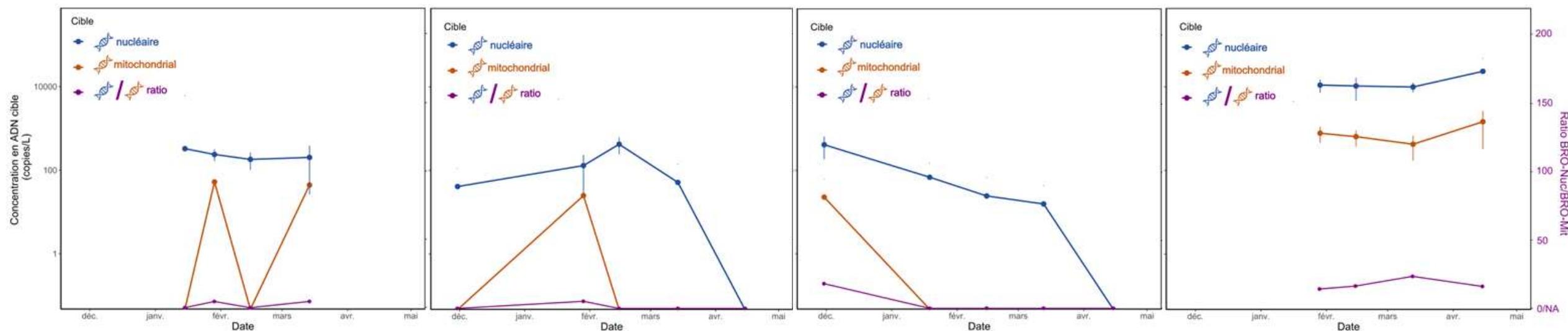
- Stations en suivi ponctuel

Station 5

Station 9

Station 11

Station 12



Présence de Brochet sédentaire (ST12)

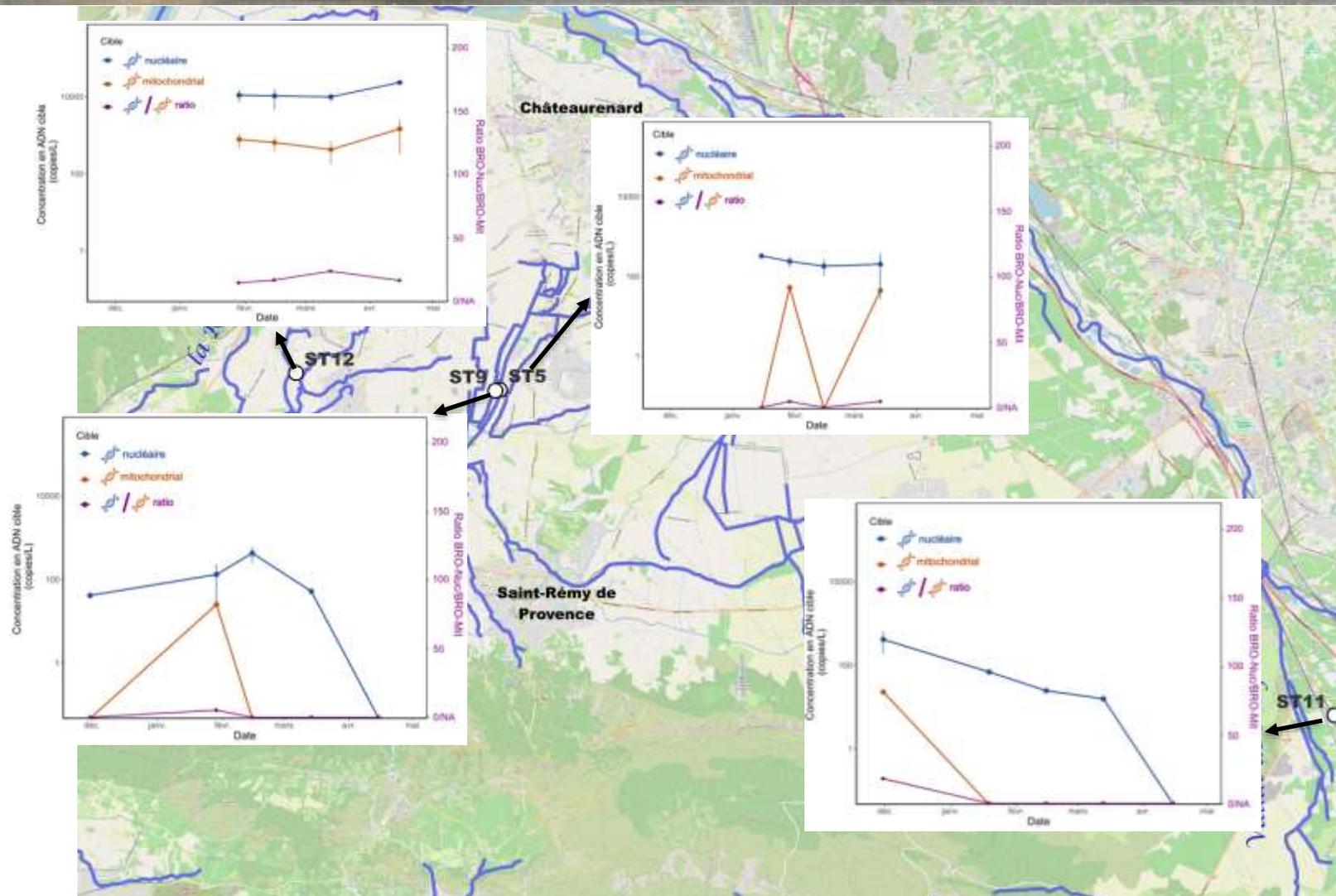
Présence Brochet variable (ST5, ST9, ST11)

Suivi temporel insuffisant pour conclure sur l'activité de reproduction



Résultat

- Stations en suivi ponctuel





Discussion / Conclusion

Avantages

- Non invasif
- Effort humain réduit
- Bornage temporelle fin de l'activité de repro = répond au besoin
- Couverture spatiale large échelle intéressante

Inconvénients

- Nécessite une bonne connaissance des habitats
- Manque de recul sur la distance à la source
- Couverture spatiale à échelle fine plus limitée dans ce contexte (origine des eaux, connectivité)
- Chronophage

Perspectives

- Amélioration de la fenêtre de suivi (réduire à 4-6 semaines)
- Alléger le protocole de terrain (moins de répliques terrain)
- Etude complémentaire de génétique des populations en cours
- Comment utiliser les données ADNe dans un contexte réglementaire ?



Merci pour votre attention

