



# Invertébrés benthiques des cours d'eau de Mayotte : avancement, perspectives du programme, méthodes innovantes



**INRA**

SCIENCE & IMPACT



Agnès BOUCHEZ, Frédéric RIMET, Isabelle DOMAIZON, Kalman TAPOLCZAI, Valentin VASSELON, Thierry CAQUET, Marc ROUCAUTE, Alain FRANC (INRA EFPA), Nathalie MARY (ETHYC'O)

Mahendra MARIADASSOU, Sophie SCHBATH, Stéphane ROBIN, J.François GIBRAT (INRA MIA)  
Olivier MONNIER (Onema), Loïc THOUVIGNON (Onema Mayotte)  
Virginie ARCHAIMBAULT (Irstea)  
Rémy COULOMB, Timothée JAOUEN (BRGM),  
Florence PERES, Lénaïg KERMARREC, Gilles GASSIOLE (Asconit),  
Anil AKBARALY (DEAL)





# Contexte

- Mayotte départementalisé le 31 mars 2011, RUP depuis 1<sup>er</sup> janvier 2014
- Application des directives européennes > DCE
- Mise en place d'un biomonitoring adapté pour les cours d'eau
- Demande Onema :
  - 1/ des méthodes de bioindication faciles à mettre en œuvre,
  - 2/ développement de méthodes innovantes,
  - 3/ des méthodes permettant l'inter-comparaison entre DOM.



# SOMMAIRE

## ❖ 1- Etat des lieux

- ❖ Le RCS et les données existantes
- ❖ Les gradients, les contaminations
- ❖ Situations manquantes - calendrier

## ❖ 2- Biotypologie

- ❖ Type d'échantillonnage
- ❖ Communautés en présence

## ❖ 3- Approches innovantes

- ❖ Métriques de bioindication
- ❖ Inventaires par séquençage massif



01

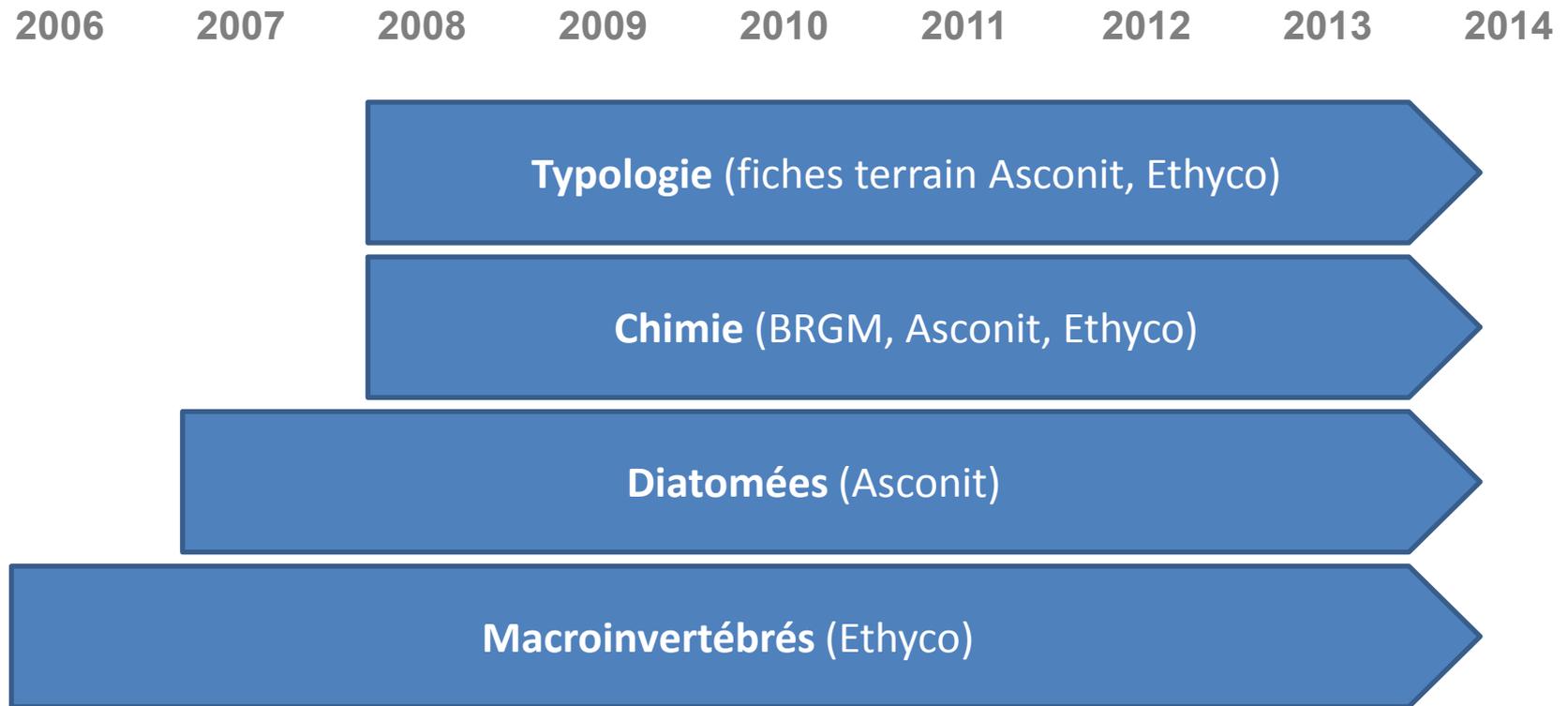
## Etat des lieux

> Le RCS, les données existantes

# 1- Etat des lieux

> Le RCS, les données existantes

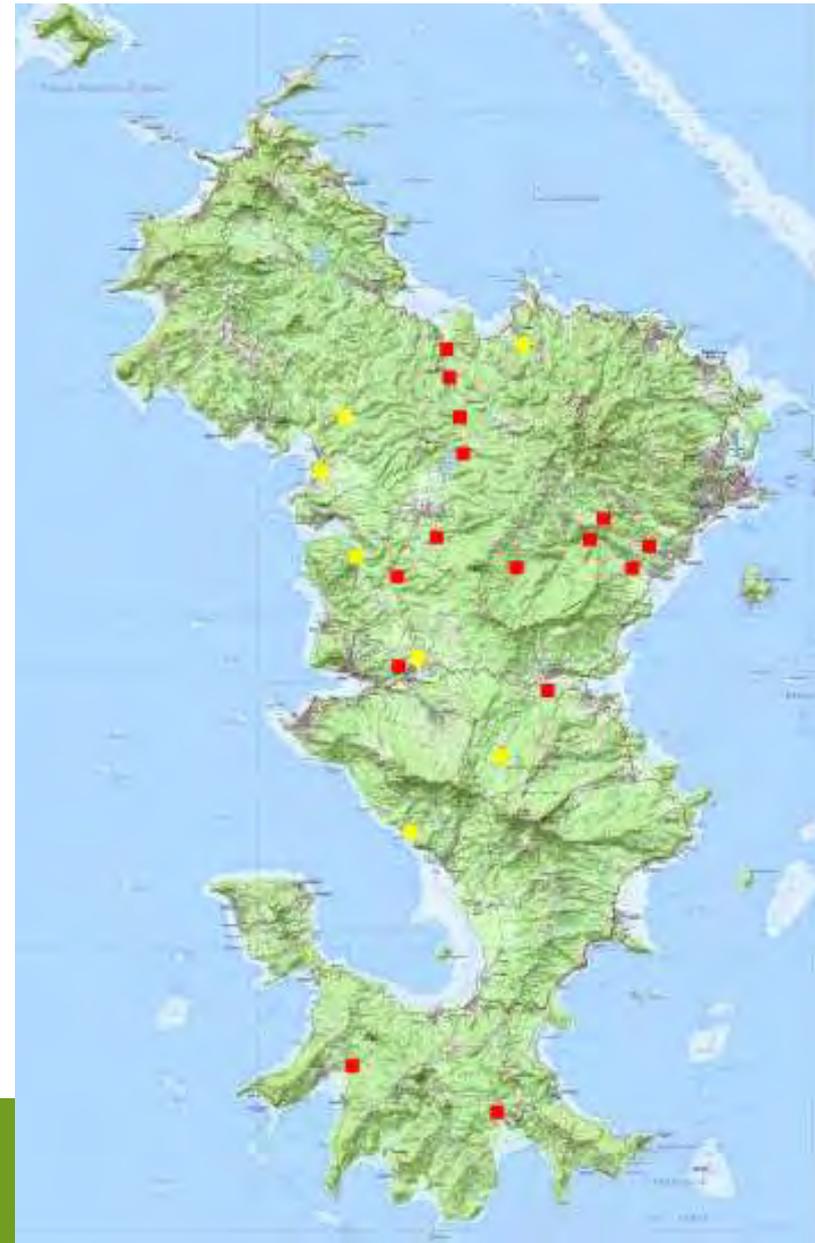
❖ Historique relativement récent:



# 1- Etat des lieux

> Le RCS, les données existantes

- ❖ RCS : 15 stations (rouge)
- ❖ 7 stations, n'appartenant pas au RCS  
(études préliminaires, jaune)
- ❖ Constitution de bases de données
  - ❖ Typologie
  - ❖ Pression
  - ❖ Chimie
  - ❖ Diatomées
  - ❖ Macroinvertébrés
  - ❖ Chimie associée aux diatomées (moy. 3 mois)
  - ❖ Chimie associée aux macroinvertébrés (moy. 6 mois)





# 01

## Etat des lieux

- > Les gradients, les contaminations
- > Les situations manquantes

# 1- Etat des lieux

## > Les gradients, les contaminations

- ❖ Utilisation des limites de classes du SEQeau :
  - ❖ Pas adapté au contexte tropical ... mais
  - ❖ Permet en 1ere approche de connaitre les principaux gradients

Très bonne

Bonne

Moyenne

Mauvaise

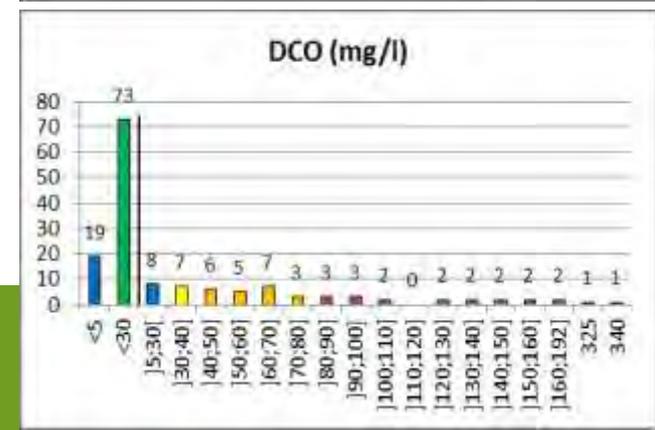
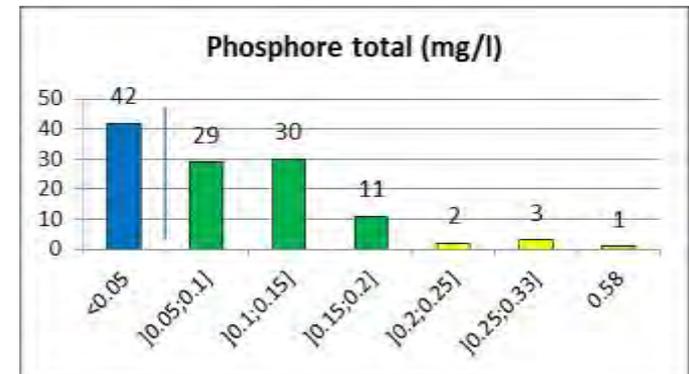
Très mauvais



# 1- Etat des lieux

## > Les gradients, les contaminations

- ❖ Utilisation des limites de classes du SEQeau :
  - ❖ Pas adapté au contexte tropical ... mais
  - ❖ Permet en 1ere approche de connaitre les principaux gradients
  - ❖ Principaux problèmes :
    - ❖ Gradients très courts



# 1- Etat des lieux

## > Les gradients, les contaminations

### ❖ Utilisation des limites de classes du SEQeau :

❖ Pas adapté au contexte tropical ... mais

❖ Permet en 1ere approche de connaitre les principaux gradients

❖ Principaux problèmes :

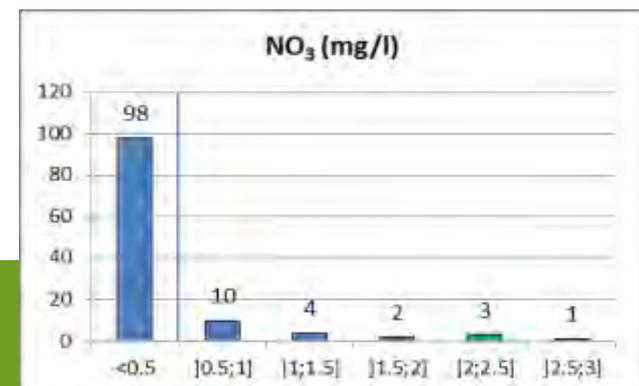
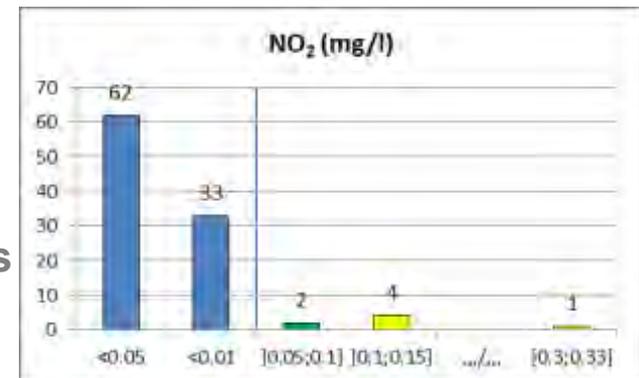
❖ Gradients très courts, inexistants

❖ Sous les seuils de quantification des labos

ces seuils varient d'une année à l'autre

❖ CONCLUSION : stations du RCS globalement

de bonne qualité ...



# 1- Etat des lieux

## > Les situations manquantes

- ❖ RCS : pas suffisamment de données sur:
  - ❖ les situations propres → conditions de référence
  - ❖ les situations les plus polluées → gradients de contamination



# 1- Etat des lieux

## > Les situations manquantes

- ❖ RCS pas suffisant, pas de données sur :
  - ❖ les conditions de référence (bleu) : 18 sites proposés et prospectés
  - ❖ les situations polluées (rouge) : 30 sites proposés
- ❖ Première sélection (2013):
  - ❖ les conditions de référence (bleu) :
    - ❖ 4 sites rejetés Note méthodologique pour les critères de sélection des sites de référence (Wasson, 2004),
    - ❖ 6 sites à confirmer sur base de la biologie.
    - ❖ Les 16 sites seront quand même prélevés en 2014.
  - ❖ les situations polluées (rouge) :
    - ❖ 16 sites retenus (beaucoup de cours d'eau temporaires)

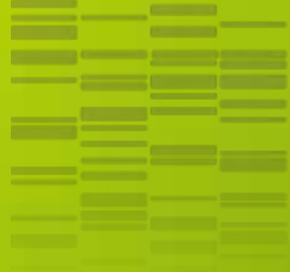


# 1- Etat des lieux

> Les situations manquantes

❖ Calendrier / 3 réseaux:





# 02

## Biotypologie

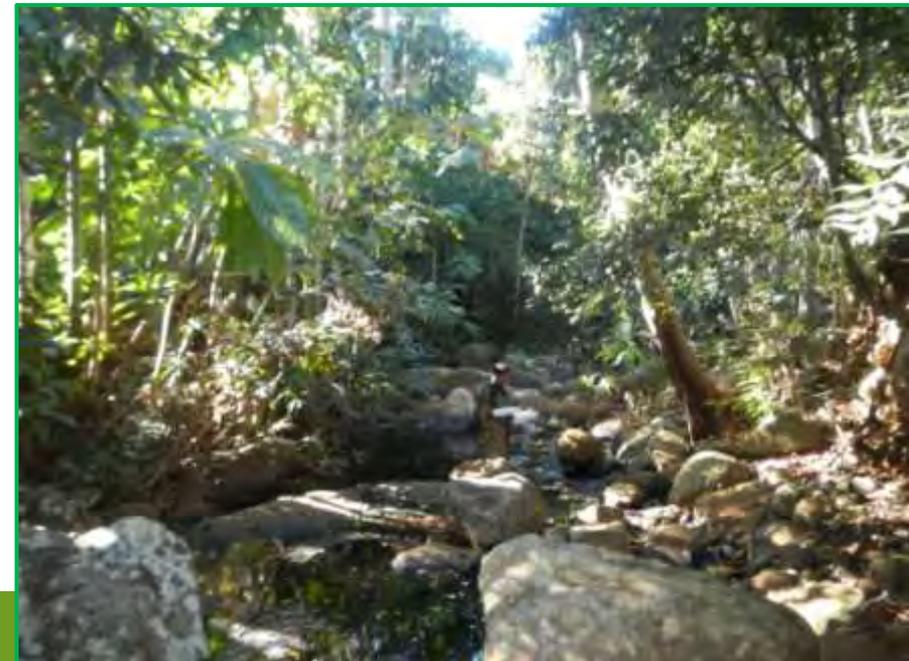
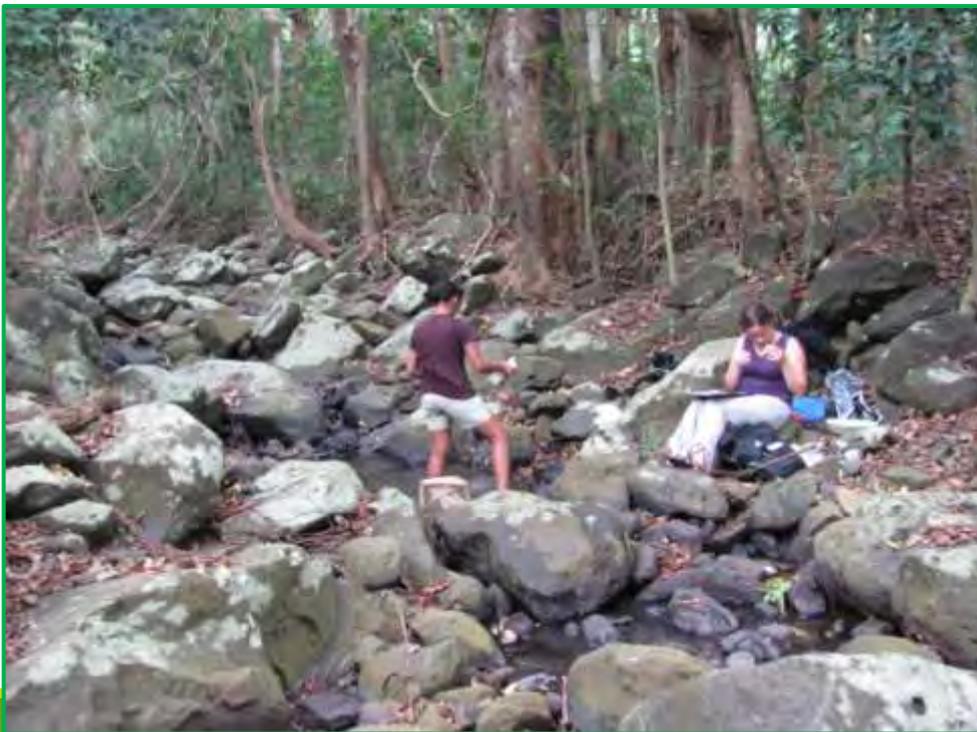
- > Type d'échantillonnage
- > Les communautés en présence

## 2- Biotypologie

> Type d'échantillonnage et comptage

**Macroinvertébrés** : conforme à la norme XP T 90- 333 (prélèvement des macro invertébrés benthiques en rivières peu profondes)

➤ 12 prélèvements par station (4 substrats marginaux + 8 substrats dominants)



## 2- Biotypologie

### > Les communautés en présence

#### ❖ Diversité taxonomique :

❖ 160 taxons

❖ 47 taxons identifiés à l'espèce (avec l'aide de taxonomistes) **27%**

❖ 60 taxons identifiés au genre **37%**

❖ Une dizaine d'espèces décrites depuis 2006 (insectes trichoptères et diptères, Hydracariens)



*Simulium (Meillonium) adersi* (insecte Diptère Simuliidae). Photos D.A. Craig

## 2- Biotypologie

### > Les communautés en présence

#### ❖ Diversité taxonomique

- ❖ Probablement plus de **50% d'endémisme** chez les insectes trichoptères et éphéméroptères (polluo-sensibles)
- ❖ Endémisme moins important chez les odonates, les hétéroptères et les coléoptères aquatiques (forte influence africaine et/malgache)

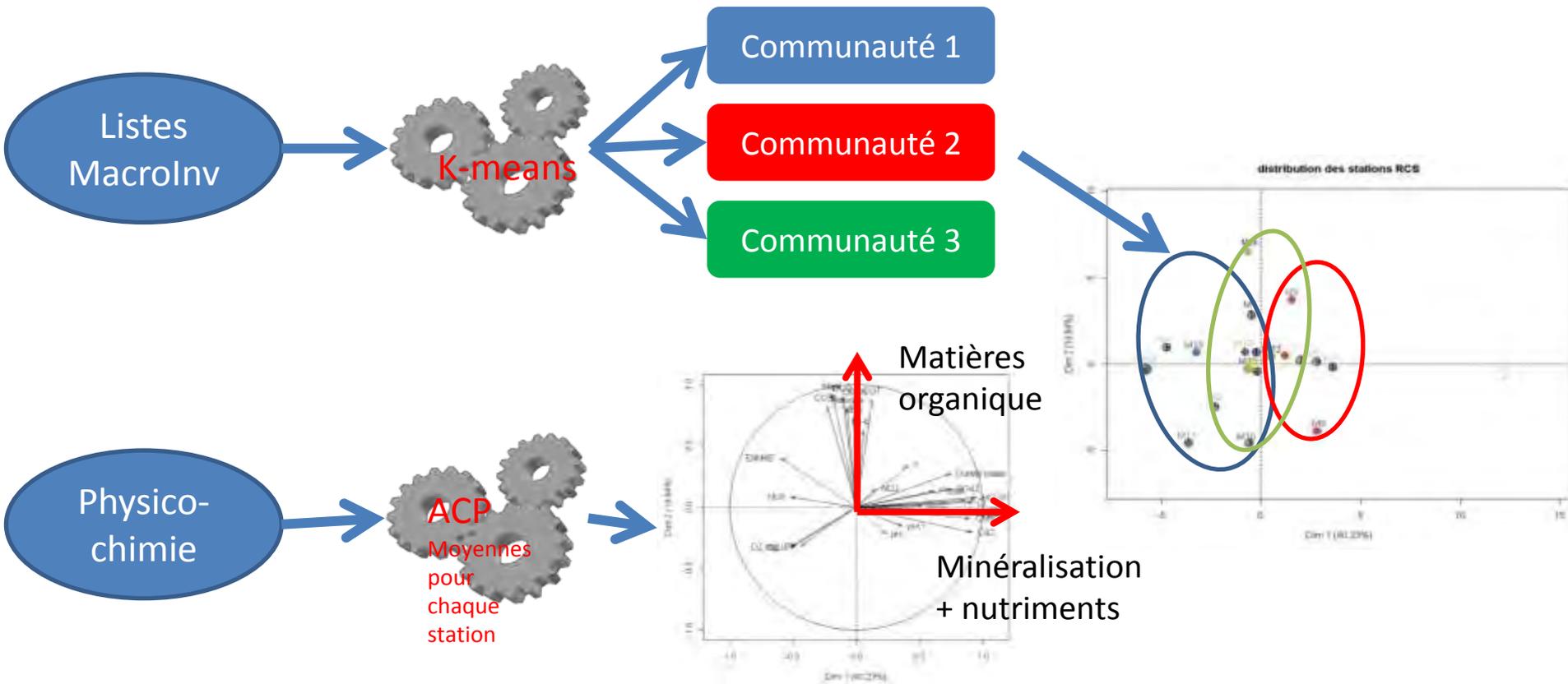


*Euthraulus starmuehlneri* Peters, 1980

# 2- Biotypologie

> Les communautés en présence

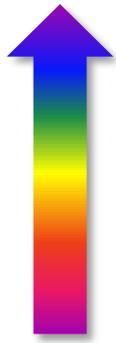
❖ Quelles communautés sont présentes?



## 2- Biotypologie

### > Les communautés en présence

#### ❖ Quelles communautés sont présentes?

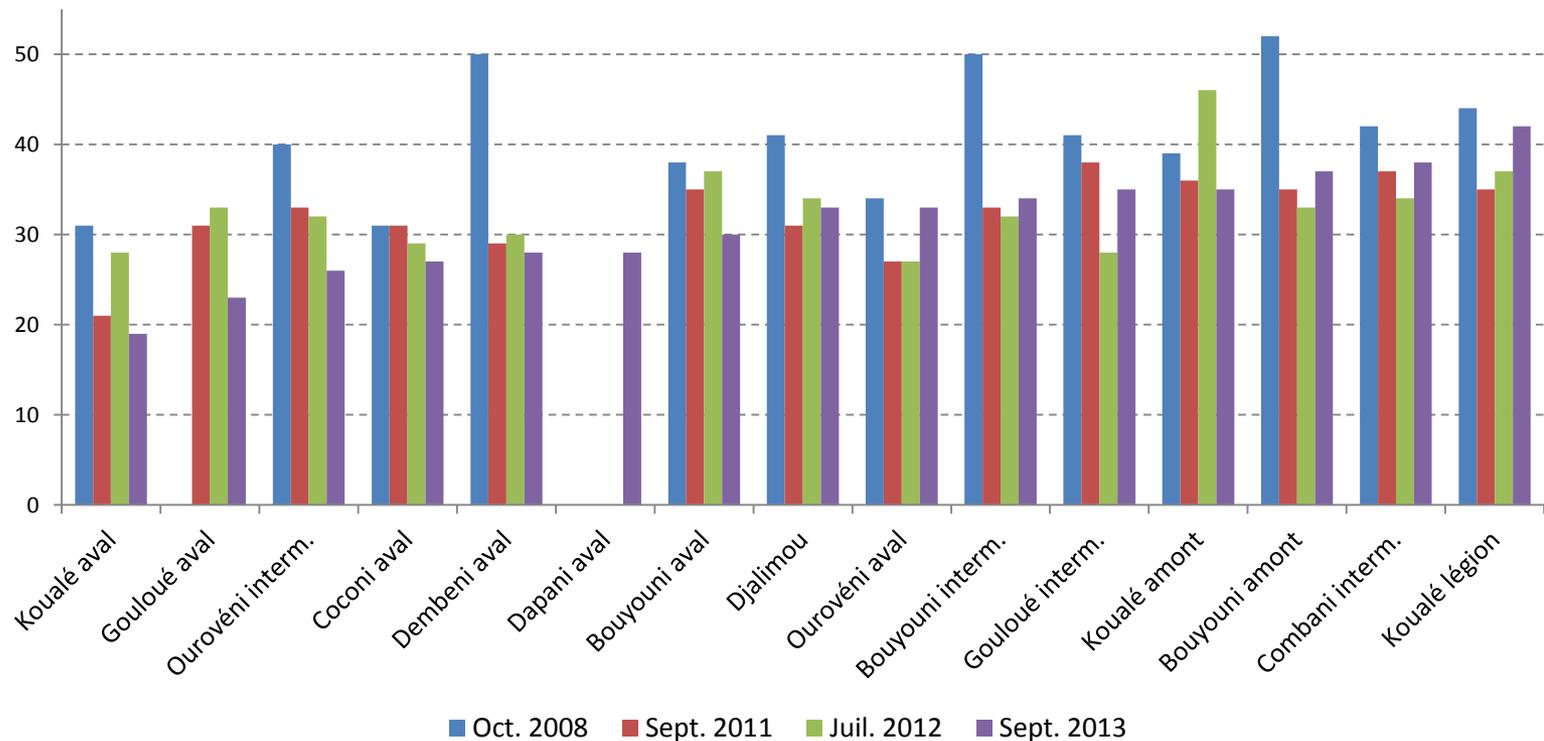


- ❖ Communauté 1: indice GOLD le plus faible des 3 groupes , stations les moins dégradées du RCS
  - ❖ Communauté 3: indice GOLD proche de comm. 2, station dégradées, position avale
  - ❖ Communauté 2: indice GOLD le plus élevé, stations les plus dégradées du RCS
- 
- ❖ 1<sup>er</sup> classement des stations du RCS selon ces 3 groupes
  - ❖ Rq: Communautés assez proches, gradients de pollution faibles

# 2- Biotypologie

## > Les communautés en présence (RCS)

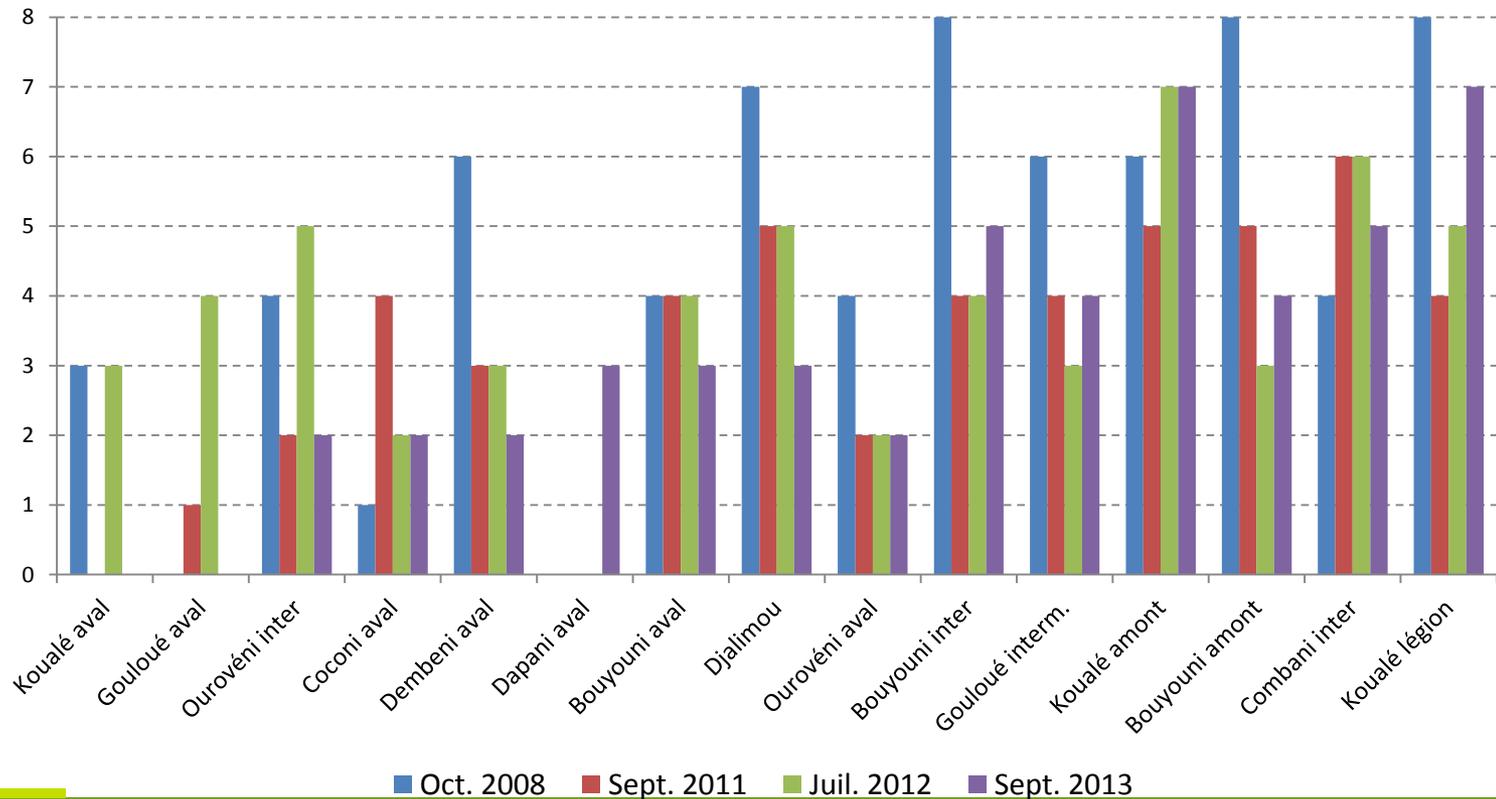
- ❖ Une richesse taxonomique en baisse depuis l'étiage 2008 (en particulier à l'aval des rivières)

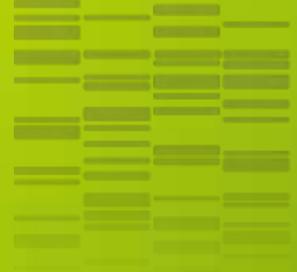


# 2- Biotypologie

## > Les communautés en présence (RCS)

- ❖ Une richesse en insectes polluo-sensibles (indice EPT) faible à nulle à l'aval des rivières





03

## Les approches innovantes

> Métriques de bioindication



## 2- Les approches innovantes

### ➤ Métriques de bioindication

- ❖ Les niveaux les plus fins taxonomiquement ne sont pas forcément les meilleurs pour la bioindication (Rimet & Bouchez 2012a)
- ❖ Intérêt des métriques alternatives (formes de vie, guildes ...) cf. Berthon et al. 2011, Rimet & Bouchez 2012b
- ❖ Intérêt de métriques robustes contournant la taxonomie (taille...cf. Roucaute)
- ❖ Peut on utiliser la phylogénie pour explorer la polluosensibilité des taxons?  
Nouvelles métriques (Larras, Keck et al. 2014) ?
- ❖ Ces métriques alternatives sont-elles utilisables dans différents cadres typologiques (milieux tempérés, tropicaux) ?



## ASPT / traits bio

- ASPT : métrique la plus performante de l'I2M2 avec une identification à la famille.
- manque de connaissances a priori sur les espèces locales → utilisation des traits biologiques (taille, régime alimentaire, respiration...).

## EPT / GOLD

- Les premiers tests sur les données du RCS semblent concluants (Anso S. 2013)

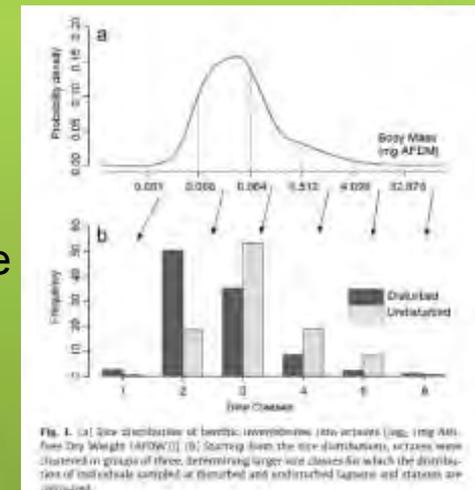
## Macroinvertébrés (I2M2)

## Classes de taille

> Méthode explorée en milieu marin dans le cadre de la DCE

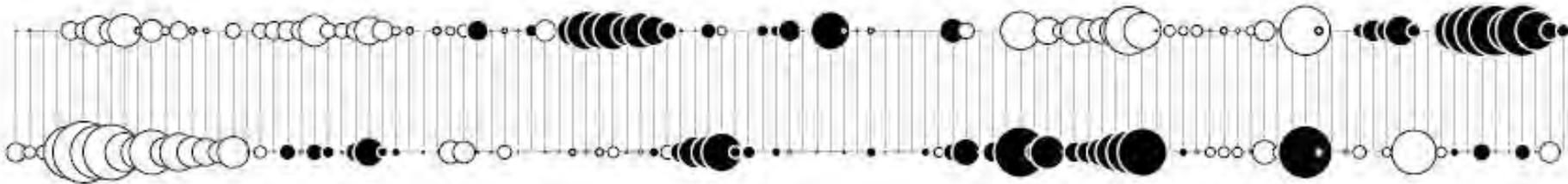
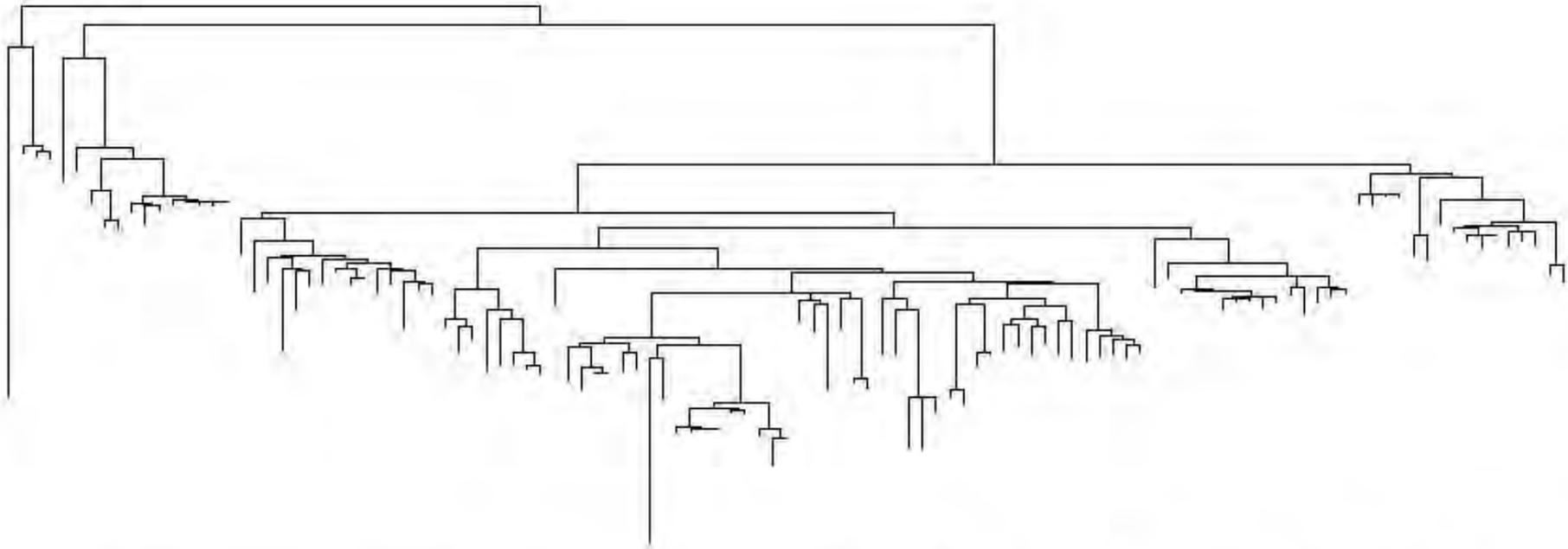
> Le spectre de taille se décale vers les petites tailles en cas de perturbation

> corrélés avec plusieurs gradients de perturbation



# Métriques alternatives

## Lien phylogénie/polluosensibilité (Keck F.)



Small, illegible text at the bottom of the slide, possibly a list of references or a detailed legend.



# 03

## Les approches innovantes

> Inventaires par séquençage massif

## 2- Méthodes innovantes : metabarcoding

### > Inventaires moléculaires par séquençage massif

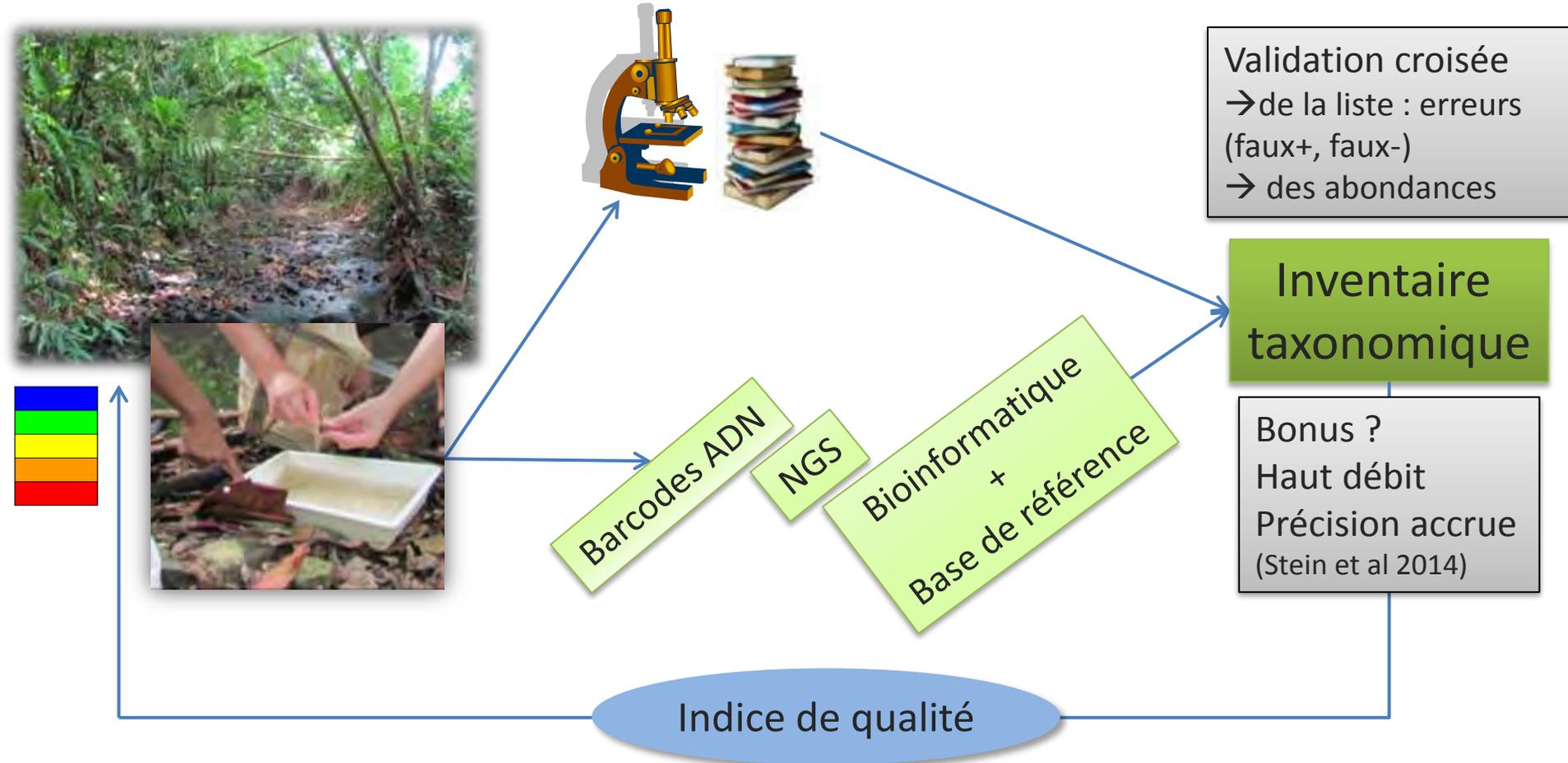
#### **Inventaire morphologique en microscopie optique**

- ❖ fastidieux et expertise-dépendant, pérennité expertise taxo
- ❖ extrêmement difficile voire impossible au stade larvaire pour les macro-invertébrés
- ❖ besoin d'inventaires multi-habitats (I2M2)
- ❖ besoin de suivis environnementaux haut débit



**Inventaires basés sur des séquences ADN (barcodes) obtenues par  
les nouvelles techniques de séquençage massif (NGS)  
= metabarcoding**

## 2- Méthodes innovantes : metabarcoding





1 site / 12 échantillons  
(≠ habitats I2M2, filet)

**endémisme reconnu**  
**microscopie : tri et comptage total**



**test du metabarcoding sur 3 ordres**  
→ 2 polluo-sensibles:  
éphéméroptères, trichoptères  
→ 1 polluo-tolérant:  
diptères

**Bases de référence ADN/taxo**  
→ non développée  
→ en cours... → complète (CO1, 16S)  
coll. Museum Lausanne – JL Gattolliat  
coll. U. Guelph (CA) – M. Hajibabaei

# Inventaires ADN vs Microscopie

Réseaux :

RCS (15)

2008

2015

REF (18)

2013-15

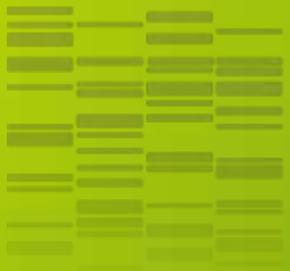
POL (15)

2014-15

	2012	2013	2014	2015	<i>tot</i>
RCS (15)	15	15	15	15	60
REF (18)		18	18	15	51
POL (15)			15	18?	33
	} <i>disponible</i>				144

Base de référence MIB : CO1 (130bp), 16S (160bp) → 2014/15

Tests metabarcoding : 2015/16



02

---

## Déroulement de l'action

> 2013 à 2016-17

# Déroulement de l'action

## 2013 : Bilan

- données biologiques (DIA-MIB)
- pressions (chimie, BV)
- base de barcodes
  
- Préparation campagnes 2013-14
- 18 sites de référence : reconnaissance + échantillonnage chimie-bio + analyse

## 2014 : Terrain /acquisition données

- Echantillonnage de 48 sites (bio+chimie) : 15 RCS / 18 REF / 15 POL
- Analyse échantillons:
  - Bio: DNA / optique
  - Chimie eau
  
- Mise en place outils innovants : inventaires moléculaires

## 2015 : Inventaires / Métriques

- Inventaires DNA / optique
- Mise en oeuvre méthodes innovantes (math/bioinfo)
  
- Métriques bioindic.
  - conventionnelles (cf autres DOM)
  - innovantes (guildes, formes de vie, etc ...)

## 2016-17 : Bilan méthodologique

- Comparaison inventaires
- Comparaison des métriques
- Evaluation de l'incertitude

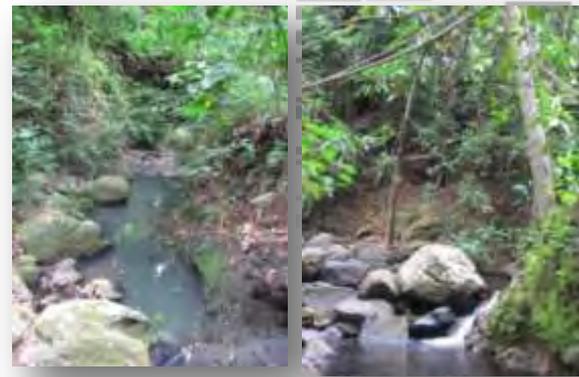
# Mayotte - sites de référence – mars 2013

1. mission d'une semaine : A. Bouchez, O. Monnier, Y. Reyjol avec l'assistance sur place de A. Akbaraly (DEAL), T. Jaouen (BRGM), L. Thouvignon (ONEMA)

→ Reconnaissance de 18 sites de référence répartis sur toute l'île, écoulement pérenne

2. Suivi physico-chimique et biologique de ces sites mis en place dès 2013

→ 3 suivis physico-chimie + DIA +MIB / site



# Déroulement de l'action

## 2013 : Bilan

- données biologiques (DIA-MIB)
- pressions (chimie, BV)
- base de barcodes
- Préparation campagnes 2013-14
- 18 sites de référence : reconnaissance + échantillonnage chimie-bio + analyse

## 2014 : Terrain /acquisition données

- Echantillonnage de 48 sites (bio+chimie) : 15 RCS / 18 REF / 15 POL
- Analyse échantillons:
  - Bio: DNA / optique
  - Chimie eau
- **Mise en place outils innovants : inventaires moléculaires**

## 2015 : Inventaires / Métriques

- **Inventaires** DNA / optique
- Mise en oeuvre méthodes innovantes (math/bioinfo)
- **Métriques bioindic.** conventionnelles (cf autres DOM)
- innovantes (guildes, formes de vie, etc)

## 2016-17 : Bilan méthodologique

- Comparaison inventaires
- Comparaison des métriques
- Evaluation de l'incertitude

# Déroulement de l'action

## 2013 : Bilan

- données biologiques (DIA-MIB)
- pressions (chimie, BV)
- base de barcodes
  
- Préparation campagnes 2013-14
- 18 sites de référence : reconnaissance + échantillonnage chimie-bio + analyse

## 2014 : Terrain /acquisition données

- Echantillonnage de 48 sites (bio+chimie) : 15 RCS / 18 REF / 15 POL
- Analyse échantillons:
  - Bio: DNA / optique
  - Chimie eau
- Mise en place outils innovants : inventaires moléculaires

## 2015 : Inventaires / Métriques

- Inventaires DNA / optique
- Mise en oeuvre méthodes innovantes (math/bioinfo)
  
- **Métriques bioindic.**
- conventionnelles (cf autres DOM)
- innovantes (guildes, formes de vie, etc ...)
  
- Suivi REF

## 2016-17 : Bilan méthodologique

- Comparaison inventaires
- Comparaison des métriques
- Evaluation de l'incertitude

# Déroulement de l'action

## 2013 : Bilan

- données biologiques (DIA-MIB)
- pressions (chimie, BV)
- base de barcodes
  
- Préparation campagnes 2013-14
- 18 sites de référence : reconnaissance + échantillonnage chimie-bio + analyse

## 2014 : Terrain /acquisition données

- Echantillonnage de 48 sites (bio+chimie) : 15 RCS / 18 REF / 15 POL
- Analyse échantillons:
  - Bio: DNA / optique
  - Chimie eau
- **Mise en place outils innovants : inventaires moléculaires**

## 2015 : Inventaires / Métriques

- **Inventaires**  
DNA / optique
- Mise en oeuvre méthodes innovantes (math/bioinfo)
  
- **Métriques bioindic.**
  - conventionnelles (cf autres DOM)
  - innovantes (guildes, formes de vie, etc ...)
  
- Suivi REF

## 2016-17 : Bilan méthodologique

- Comparaison inventaires
- Comparaison des métriques
- Evaluation de l'incertitude



# 03

## Répartition des tâches entre partenaires

> listing

# Répartition des tâches entre partenaires

## Listing

- INRA CARRETEL (A. Bouchez, F. Rimet, K. Tapolczai, V. Vasselon, I. Domaizon, L. Savoye) : pilotage, métriques diatomées, inventaires moléculaires, chimie eau
- INRA BioGeCo (A. Franc, P. Chaumeil, Y. Laizet) & INRA MIA (S. Schbath, M. Mariadassou, S. Robin, JF Gibrat) : bioinfo / phylogénie / phylotypage
- INRA ESE (M. Roucaute) : métriques macroinvertébrés
- ONEMA (O. Monnier) : co-pilotage, taxonomie diatomées
- Irstea (V. Archambault) : expertise bioindication macroinvertébrés
- Asconit (F. Peres, G. Gassiole, L. Kermarrec) : terrain, inventaires diatomées, bioindication
- Ethy'co (N. Mary) : terrain, inventaires macroinvertébrés, bioindication
- DEAL Mayotte (A. Akbaraly) : appui expertise terrain, fourniture données existantes
- BRGM (T. Jaouen, R. Coulomb) : terrain chimie (+ chimie LVAD)
- Musée cantonal de zoologie de Lausanne (JL. Gattolliat) : séquençage macroinvertébrés (base ref)
- Guelph University (M. Hajibabaei) : inventaires moléculaires macroinvertébrés
- INRA Plateforme NGS (F. Salin) : séquençage massif PGM
- MNHN (P.J. Lopez) : séquençage massif PGM (diatomées)