



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



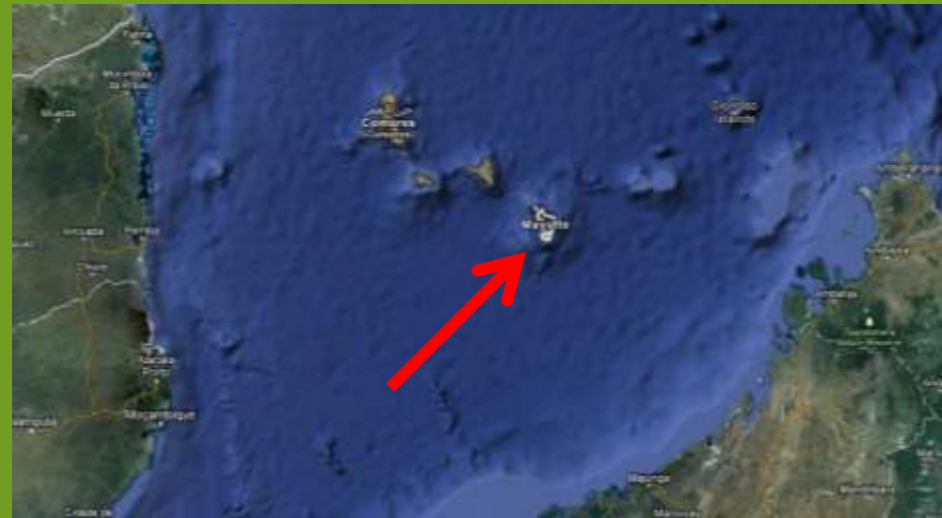
Agnès BOUCHEZ, Frédéric RIMET, Isabelle DOMAIZON, Kalman TAPOLCZAI, Valentin VASSELON, Thierry CAQUET, Marc ROUCAUTE, Alain FRANC (INRA EFPA)
Nathalie MARY (ETHYC'O)

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 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

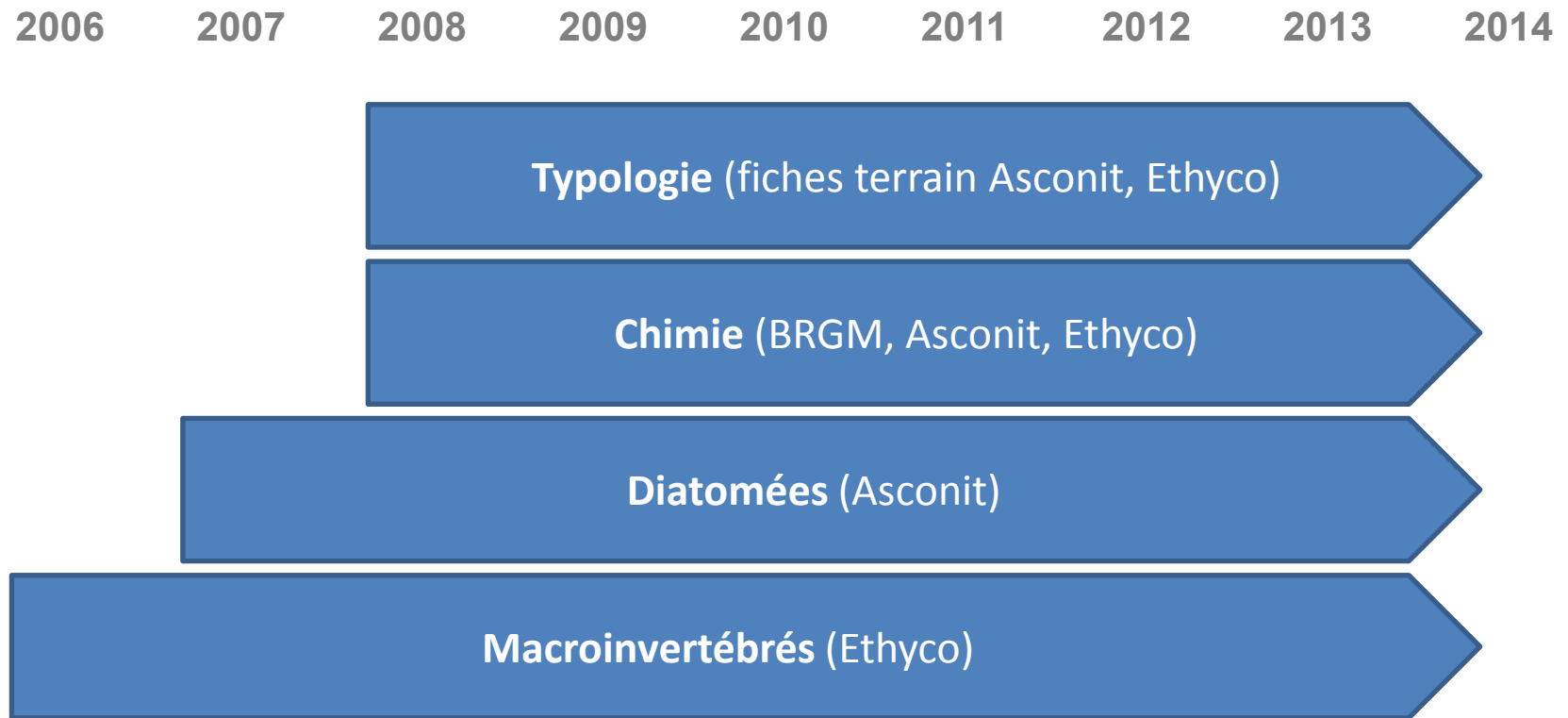
Etat des lieux

> Le RCS, les données existantes

1- Etat des lieux

> Le RCS, les données existantes

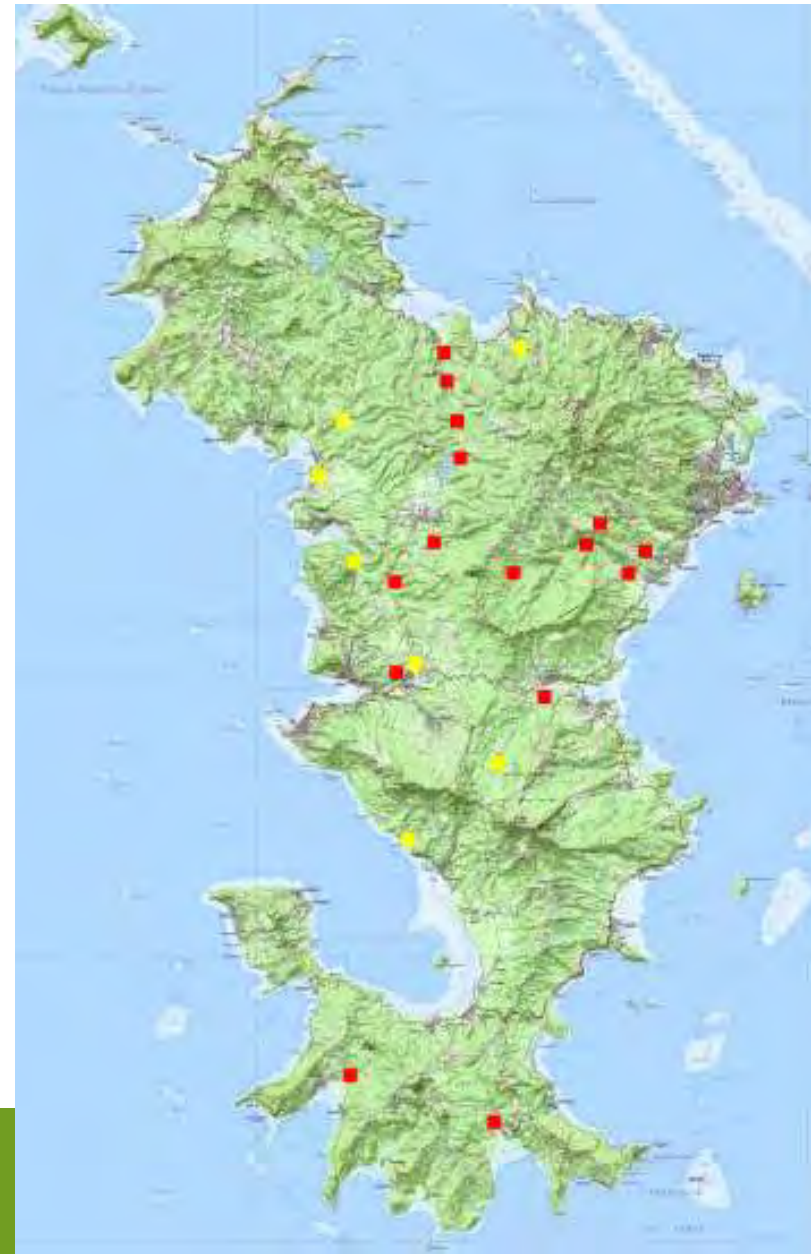
❖ Historique relativement récent:



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 connaître les principaux gradients

Très bonne

Bonne

Moyenne

Mauvaise

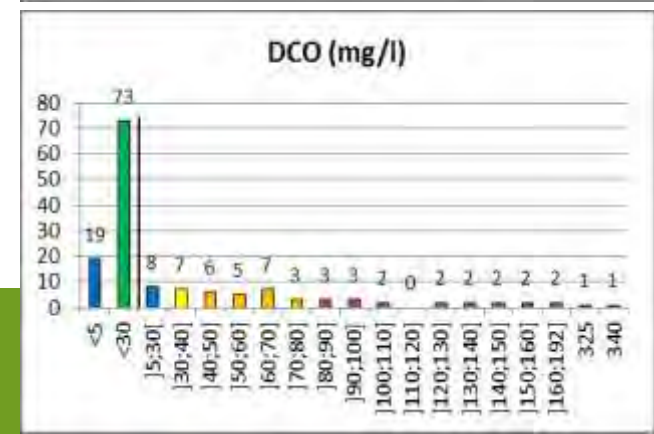
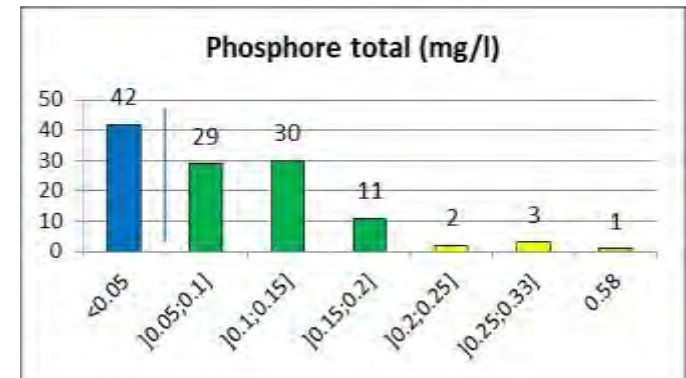
Très mauvais



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 connaître les principaux gradients

❖ Principaux problèmes :

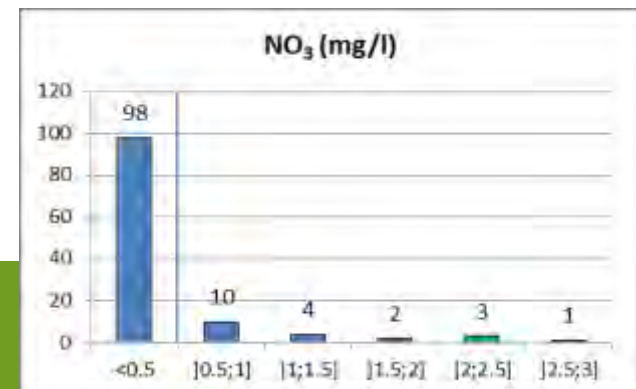
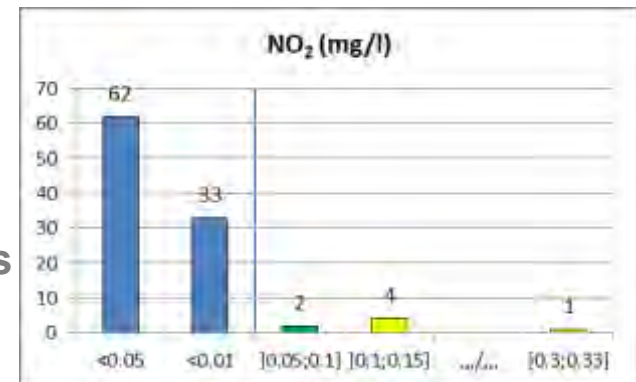
❖ Gradients très courts, inexistants

❖ 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

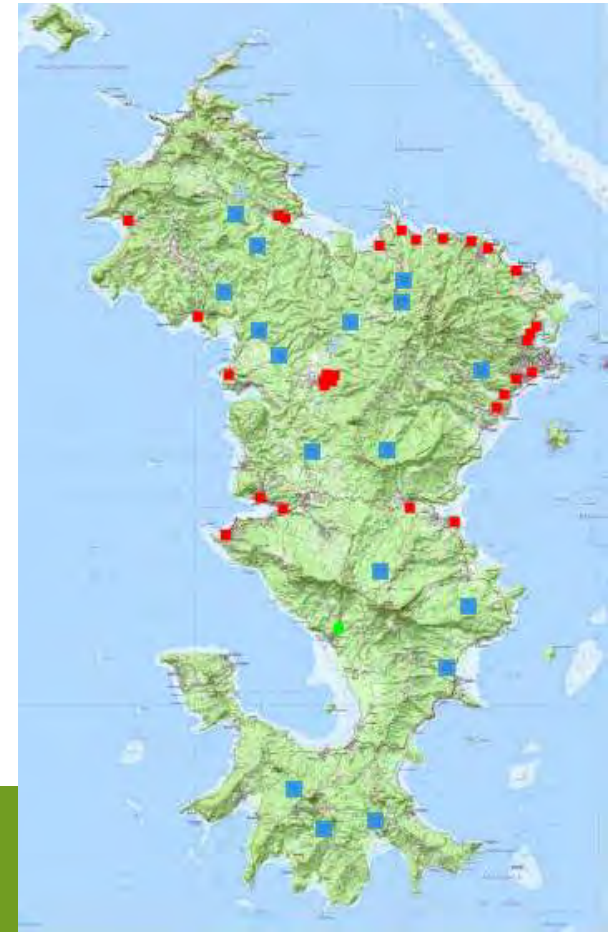
- ❖ RCS : pas suffisamment de données sur:
 - ❖ les situations propres → conditions de référence
 - ❖ les situations les plus polluées → gradients de contamination



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) : 18 sites ?
 - ❖ **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 18 sites seront quand même prélevés en 2014.**
 - ❖ les situations polluées (rouge) : 30 sites?
 - ❖ **18 sites retenus** (beaucoup de cours d'eau temporaires)



1- Etat des lieux

> Les situations manquantes

❖ Calendrier / 3 réseaux:

RCS

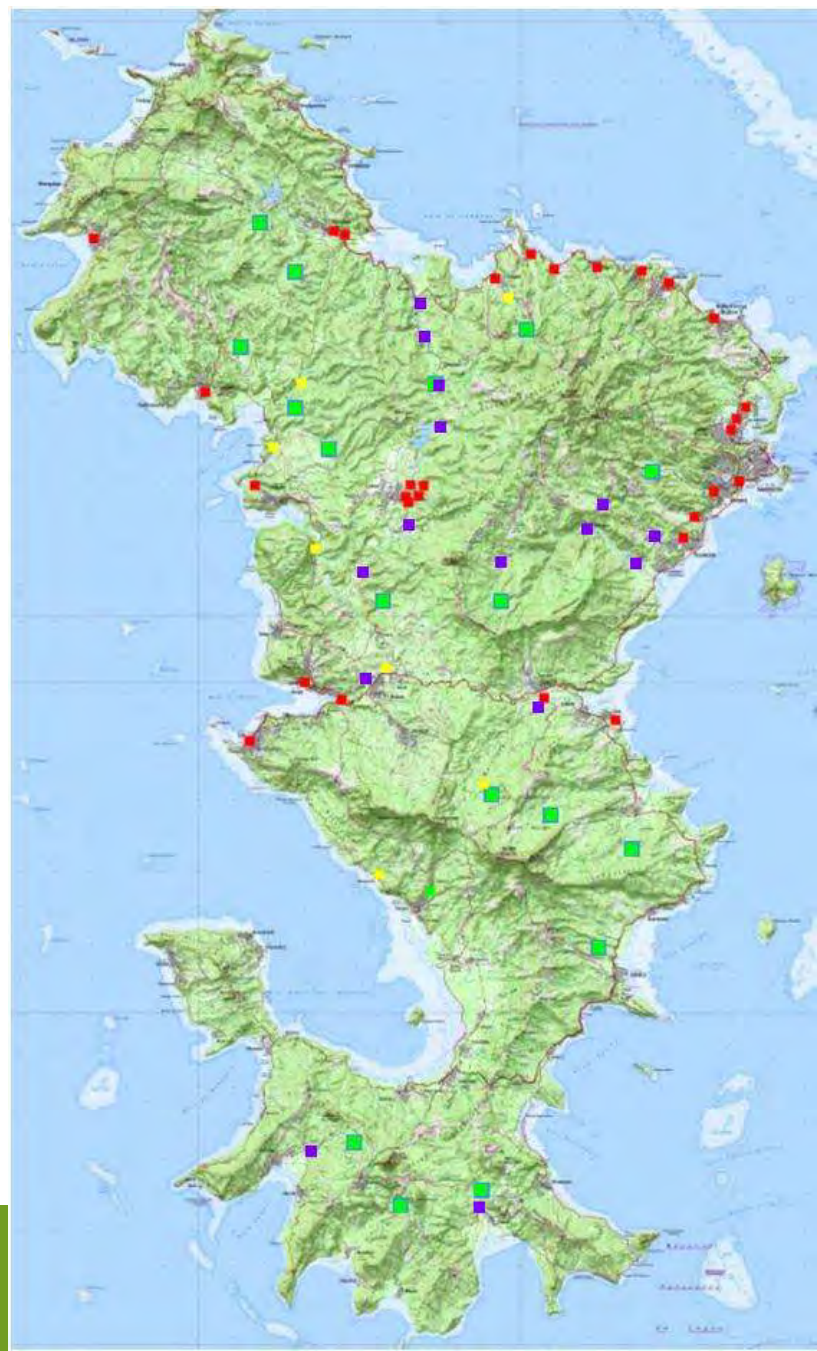
REF

POL

(2008) 2011 2015

2013-15

2014-15





02

Biotypologie

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

2- Biotypologie

> Type d'échantillonnage et comptage

❖ **Diatomées** : conforme à la norme IBD et norme européenne CEN - EN

13946 et EN 14407



Seminavis strigosa



Halamphora ghanensis

2- Biotypologie

> Les communautés en présence

❖ Diversité taxonomique

- ❖ 303 taxons

- ❖ 4 taxons identifiés seulement au genre

- ❖ 35 identifiés à un niveau sub-générique (ex. *Nitzschia* sp1, *Eolimna* sp2 ...) : càd

reconnus, mais pas de nom d'espèce. 1 taxon présentent des abondances

régulièrement > 10 % dans les échantillons (*Nitzschia* sp.1)



2- Biotypologie

> Les communautés en présence

- ❖ Diversité taxonomique
 - ❖ 303 taxons
 - ❖ 4 taxons identifiés seulement au genre
 - ❖ 35 identifiés à un niveau sub-générique
 - ❖ 23 taxons tropicaux



Gomphonema brasiliense
ssp. pacificum



Seminavis strigosa

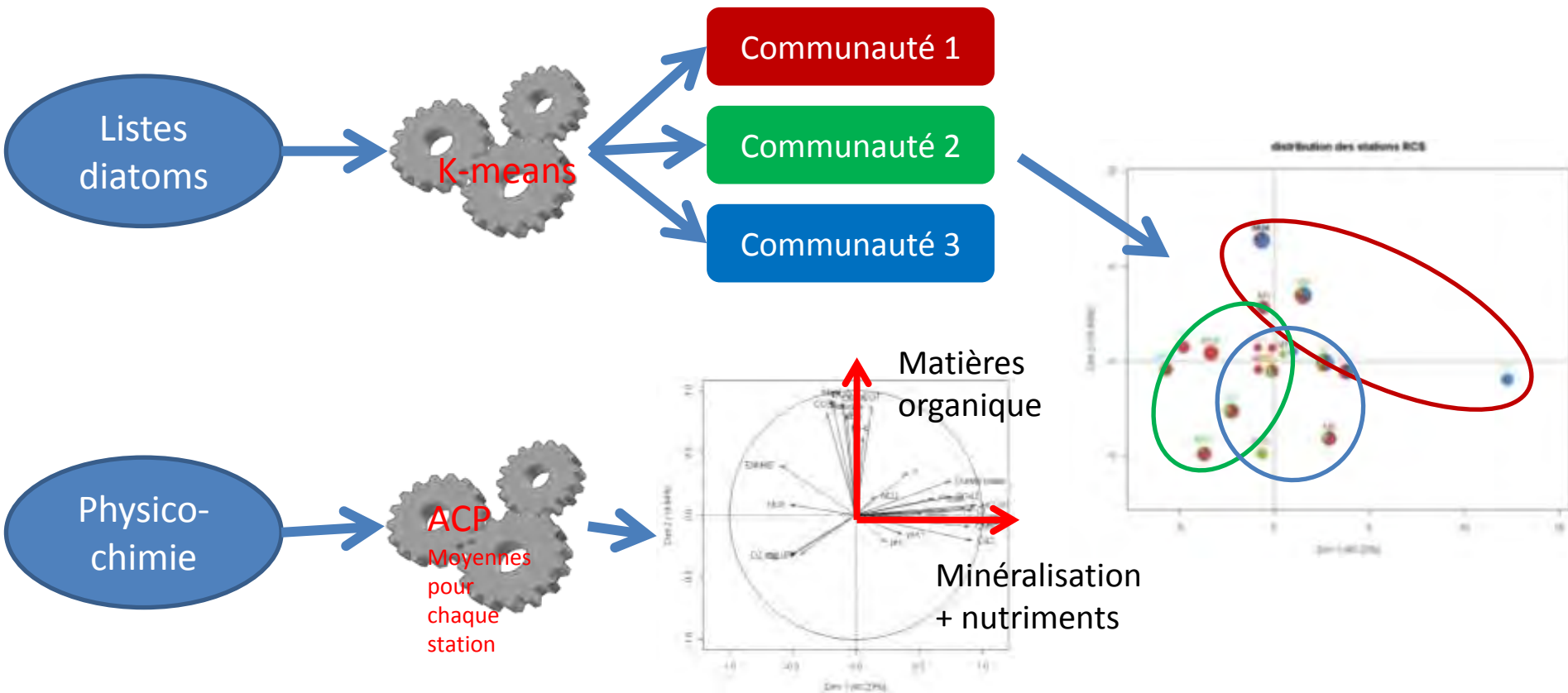


Halamphora ghanensis

2- Biotypologie

> Les communautés en présence

❖ Quelles communautés sont présentes?



2- Biotypologie

> Les communautés en présence

❖ Quelles communautés sont présentes?

❖ Note pour la DEAL Mayotte (sept 2013) :

- 
- ❖ Communauté 1: stations les plus perturbées du RCS, beaucoup de taxons mobiles caractéristiques de biofilms épais (*Nitzschia*, *Navicula*)
 - ❖ Communauté 2: stations moyennement perturbées
 - ❖ Communauté 3: stations faiblement perturbées du RCS, beaucoup de taxons fortement accrochés aux substrats, caractéristiques de biofilms fins (*Cocconeis*, *Amphora*)
-
- ❖ 1^{er} classement des stations du RCS selon ces 3 groupes
 - ❖ Rq: Communautés assez proches, gradients de pollution faibles



03

Les approches innovantes

> Métriques de bioindication



2- Les approches innovantes

➤ Métriques de bioindication

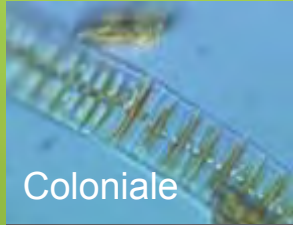
- ❖ Les niveaux les plus fins taxonomiquement ne sont pas forcément les meilleurs pour la bioindication (Rimet & Bouchez 2012a)
- ❖ Intérêt des métriques alternatives (formes de vie, guildes ...) cf. Berthon et al. 2011, Rimet & Bouchez 2012b
- ❖ Peut on utiliser la phylogénie pour explorer la polluosensibilité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



Métriques alternatives

Life- forms

relations with nutrient studied in experimental contexts (Pringle 1990, Hoagland 1982)



Coloniale



Pedunculate



Mobile

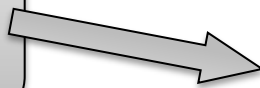
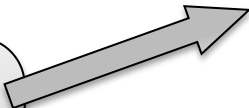


Mucous tubules



Diatom data

(species abundances)



Ecological guilds

(adapted from Passy 2008)

relations with turbulence and nutrients

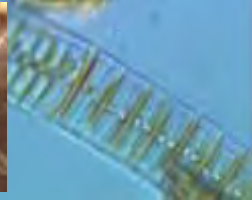
Low profile

Small size
Adnate to substrate
Slow moving



High Profile

Large size, colonial



Motile

High-speed
mobile species



Size classes

relations resource cells sizes
(Finkel 2009, Lavoie 2010)

Size classes (μm^3):

C1: 0 - 99

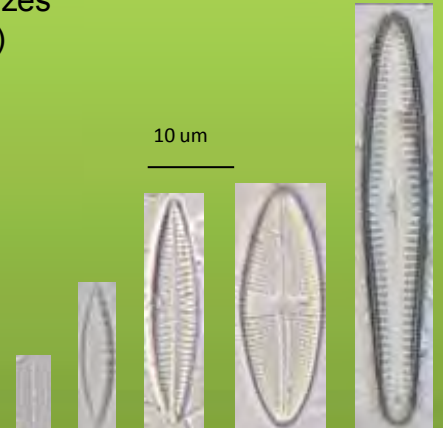
C2: 100 - 299

C3: 300 - 599

C4: 600 - 1499

C5: 1500 and taller

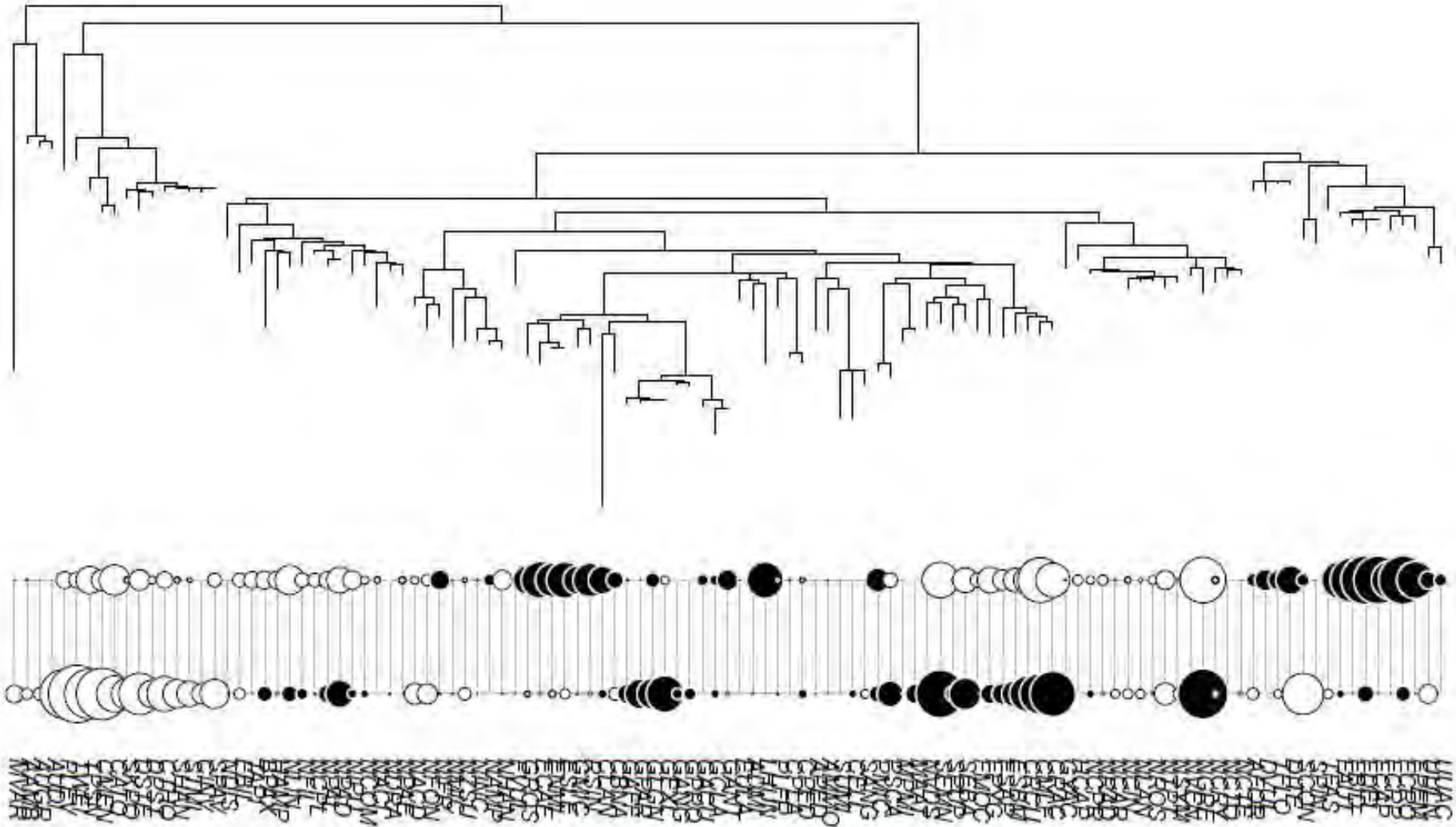
10 μm





Métriques alternatives

Lien phylogénie/polluosensibilité (Keck F.)





03

Les approches innovantes

> Inventaires par séquençage massif



2- Méthodes innovantes : metabarcoding



> Inventaires moléculaires par séquençage massif

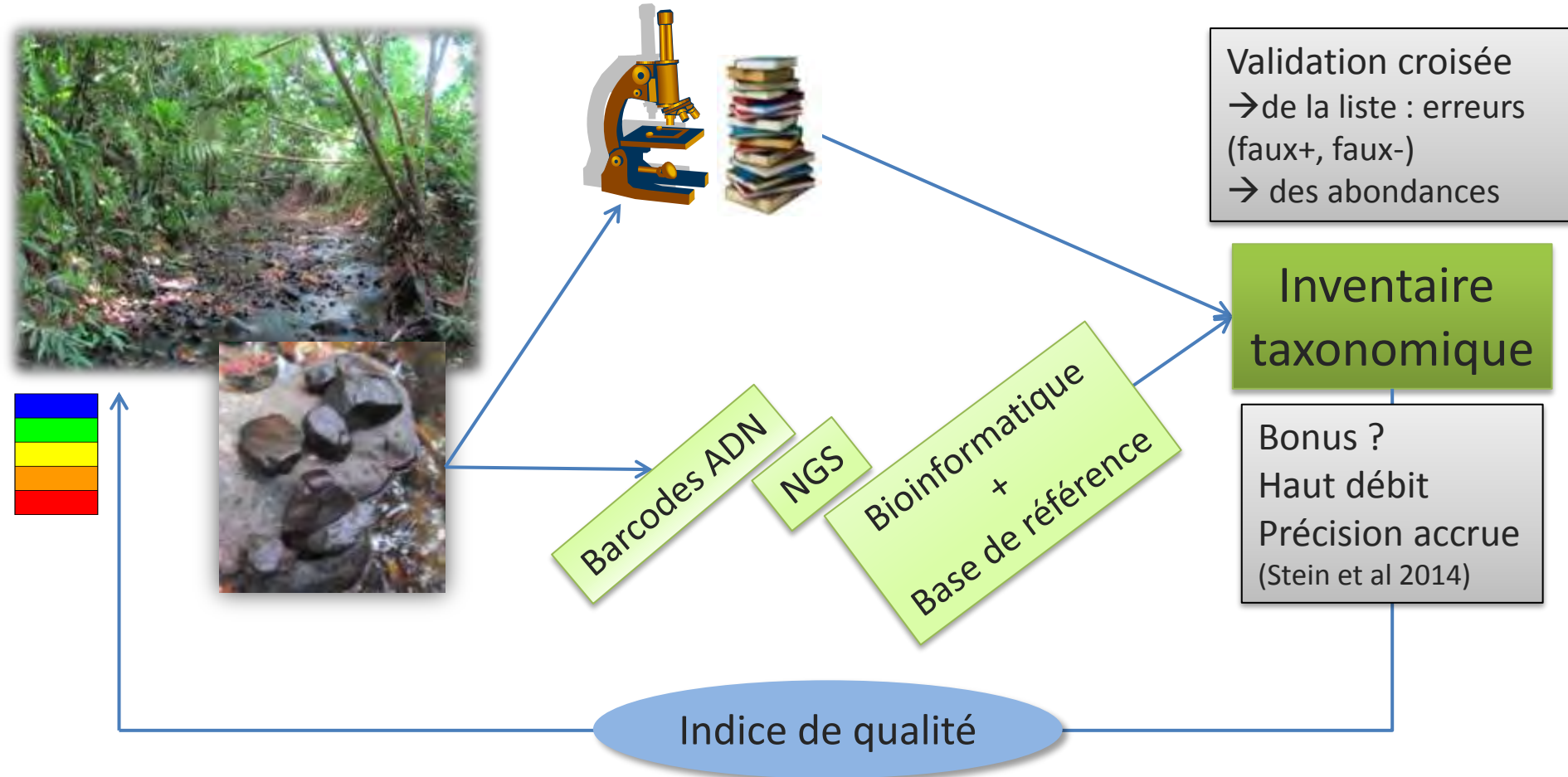
Inventaire morphologique en microscopie optique

- ❖ fastidieux et expertise-dépendant pour les diatomées, 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



2- Méthodes innovantes : metabarcoding

EN 13946 'bis'
Préservation:
ethanol
congélation ...



Technologie NGS
454, PGM?
Multiplexage?
Plateforme Métagénomique
Bordeaux-Aquitaine

Bioinfo: assignation taxo
Phylotypage?
Distances?
A. Franc, INRA Bordeaux
+ Maths-Info INRA

Barcodes ADN

NGS

Bioinformatique
+
Base de référence

Inventaire
Taxonomique*

Étape labo / biais
→ Présence absence
(Kermarrec 2012, et al 2013, 2014)
→ Quantification ?
(2014 > 2017, V. Vasselon)

Base de référence
Barcode ADN <-> Taxonomie
Isolements (TCC INRA, Kermarrec 2012)
Enrichissement par NCBI/curage
→ Complétude?

**Pour améliorer l'assignation des séquences, utiliser
l'information phylogénétique de la base de référence pour :*
→ Prédire des sensibilités d'espèces manquantes
→ Simplifier l'assignation

Larras, Keck et al 2014 – Keck et al in prep



1 site / 1 échantillon
(5 pierres / IBD)

endémisme mal connu, semble faible

microscopie : 400 frustules

base de référence ADN/taxo

→ disponible (*rbcL*, 18S)

→ incomplète... difficile à améliorer



Inventaires ADN vs Microscopie

Réseaux :

RCS (15)

2008

2015

REF (18)

2013-15

POL (15)

2014-15

2012	2013	2014	2015	<i>tot</i>
15	15	15	15	60
	18	18	15	51
		15	18?	33

144

disponible

DIA : *rbcL* (300bp) , 18S v4 (400bp)

Historique : pyro 454 sur grands amplicons fragmentés

Actuel : test *rbcL* sur PGM Ion torrent

+ test 18S prévu (prime time 400bp)



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 ...)
- Suivi réseau 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 CARTEL (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)