



**PRÉFET
DE LA RÉGION
OCCITANIE**

*Liberté
Égalité
Fraternité*

Direction régionale de l'environnement,
de l'aménagement et du logement
Occitanie

15/01/2024
Réunion de restitution

**Développement d'un outil de suivi
de l'invasion du Crabe bleu
Callinectes sapidus en
Méditerranée basé sur l'ADN
environnemental**

Janvier 2022 - Décembre 2023



© F. Javier Murcia Requena, canalarmeno



École Pratique
des Hautes Études





PRÉFET DE LA RÉGION OCCITANIE

*Liberté
Égalité
Fraternité*

L'équipe

Direction régionale de l'environnement,
de l'aménagement et du logement
Occitanie

15/01/2024
Réunion de restitution

Direction régionale de l'environnement,
de l'aménagement et du logement
Occitanie



Laetitia Cornil
Chargée de mission
Milieu marin et côtier
DREAL Occitanie
&
Nathalie Barré
Chargée de projet au
CEN Occitanie - Pôle-
relais lagunes
méditerranéennes



Mathieu Bianic
Stagiaire M1



Stéphanie Manel
DE EPHE-PSL



Claude Miaud
DE EPHE-PSL



Véronique Arnal
IE EPHE-PSL



Manon Garcia
Technicienne EPHE-
PSL



Régis Hocdé
(IR IRD)

Erwan Delrieu-Trottin
MCF EPHE-PSL



École Pratique
des Hautes Études





PRÉFET
DE LA RÉGION
OCCITANIE

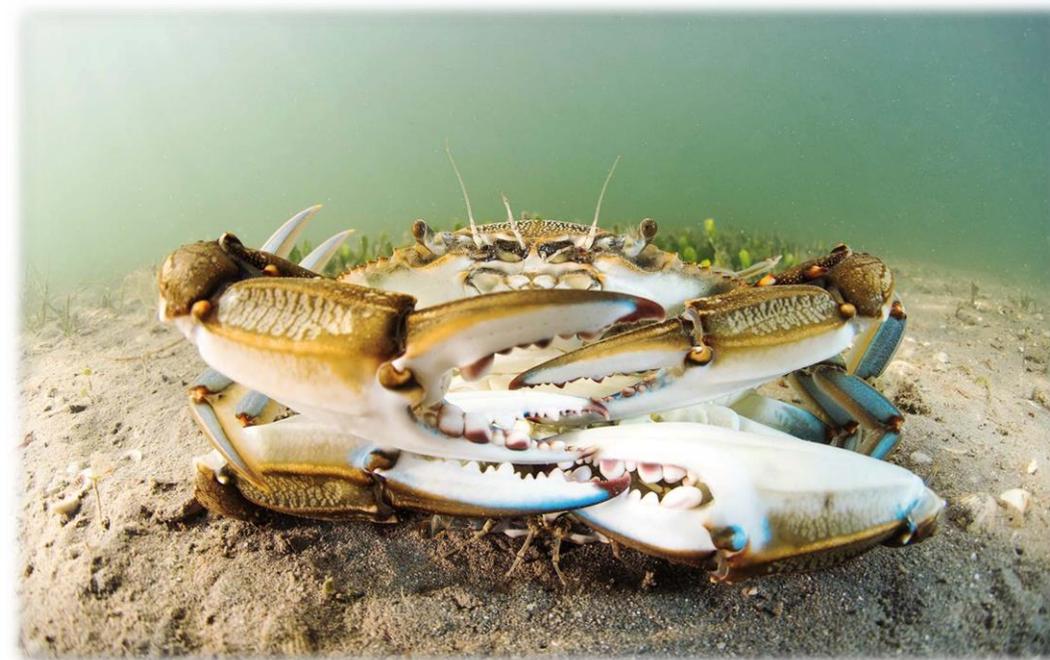
Liberté
Égalité
Fraternité

Direction régionale de l'environnement,
de l'aménagement et du logement
Occitanie

15/01/2024
Réunion de restitution

Contexte

- Le Crabe bleu fait l'objet d'un plan d'action régional en Occitanie (PAR).
 - Espèce cryptique en fond de lagune
 - Les lagunes sont des milieux très hétérogènes
- Développer une méthode de **détection précoce** et de **suivi** dans le temps du crabe bleu *Callinectes sapidus* Rathbun, 1896 **basé sur l'ADN environnemental**





Développer une méthode de **détection précoce** et de **suivi** dans le temps du crabe bleu

Travail sur l'ADN environnemental (ADNe) = molécules d'ADN « libre » ou adsorbées libérées par les organismes.

Ici récupéré dans l'eau → **Filtration**





Développer une méthode de **détection précoce** et de **suivi** dans le temps du crabe bleu

Travail sur l'ADN environnemental (ADNe) = molécules d'ADN « libre » ou adsorbées libérées par les organismes.

Ici récupéré dans l'eau → **Filtration**



Extraction ADNe



Metabarcoding de l'ADNe
Amorces « universelles » en vue
de tout séquencer



*Liberté
Égalité
Fraternité*

Développer une méthode de **détection précoce** et de **suivi** dans le temps du crabe bleu

Travail sur l'ADN environnemental (ADNe) = molécules d'ADN « libre » ou adsorbées libérées par les organismes.

Ici récupéré dans l'eau → Filtration



Extraction ADNe



Metabarcoding de l'ADNe
Amorces « universelles » en vue
de tout séquencer



Barcoding de l'ADNe
Nécessite le développement
d'amorces spécifiques



Détection
potentiellement plus
fine de l'espèce
d'intérêt

- en s'affranchissant du
séquençage

- Quantification possible
(à tester)



**PRÉFET
DE LA RÉGION
OCCITANIE**

*Liberté
Égalité
Fraternité*

Direction régionale de l'environnement,
de l'aménagement et du logement
Occitanie

15/01/2024
Réunion de restitution

Développer une méthode de **détection précoce** et de **suivi** dans le temps du crabe bleu

- 1) Développement d'amorces pour obtenir un code barre spécifique *C. sapidus* et standardisation du protocole en laboratoire
- 2) Corrélation entre concentrations ADNe détectée et densités de crabes?
- 3) Suivi de plusieurs zones cibles et développement de modèles d'occupation de sites



Développer une méthode de **détection précoce** et de **suivi** dans le temps du crabe bleu

1) Développement d'amorces pour obtenir un code barre spécifique *C. sapidus* et standardisation du protocole en laboratoire

Barcode spécifique et Sensible, situé sur le gène Cytochrome Oxidase 1 (protocole qPCR avec Sonde)

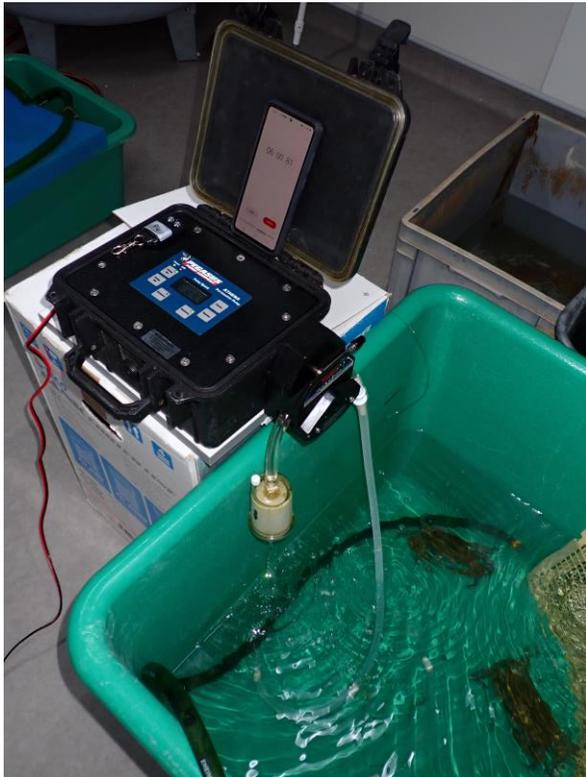
- Analyses bio-informatiques + test de différents protocoles en laboratoire in vivo sur 6 espèces d'invertébrés de Canet (S. Hourdez, OOB))
- Détection dès 10^{-5} ng/ μ l

Le marqueur **détecte de l'ADN de crabe bleu sur 12 échantillons ADNe 2021: Biodiversarium Banyuls (P. Romans); Canet (R. Mivière, JC Pons); Thau**



2) Corrélation entre concentrations ADNe et densités de crabes ?

Expérimentation en aquariums



- Pas de variation prédictible entre la concentration en ADNe et la densité de crabe pour la gamme de densités considérées

Expérimentation en conditions naturelles





2) Corrélation entre concentrations ADNe et densités de crabes ?

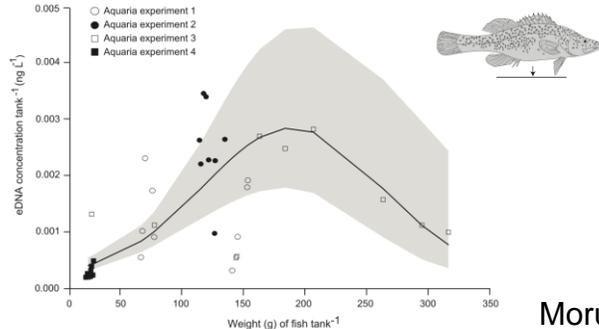
Expérimentation en aquariums



Expérimentation en conditions naturelles



- Pas de variation prédictible entre la concentration en ADNe et la densité de crabe pour la gamme de densités considérées
(Rourke, et al. 2021; Rourke, et al. 2022)



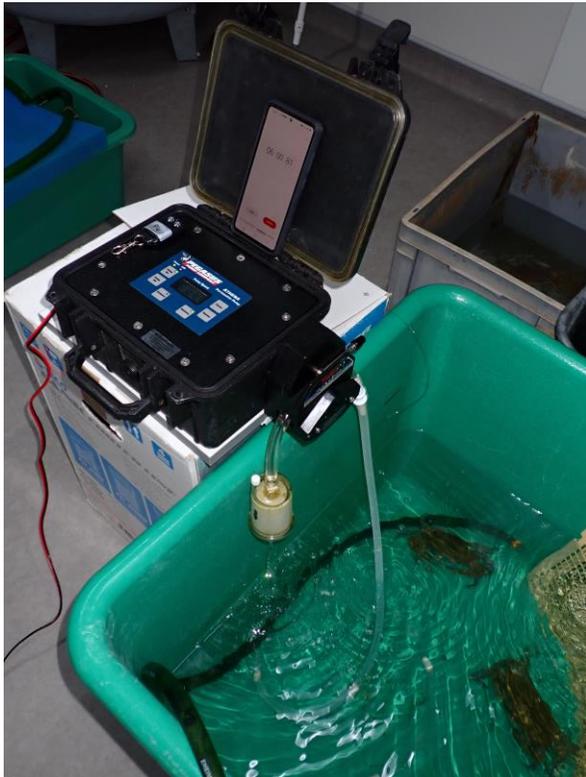
Morue de Murray

Fig. 5. Relationship between mean eDNA concentrations and the weights of Murray cod, *Maccullochella peelii* using data combined across aquaria experiments 1 (days nine and 12 samples only), 2, 3 and 4.



2) Corrélation entre concentrations ADN_e et densités de crabes ?

Expérimentation en aquariums



- Pas de variation prédictible entre la concentration en ADN_e et la densité de crabe pour la gamme de densités considérées
- on le détecte bien; que la densité soit forte ou faible (qualitatif), mais on ne peut pas faire du quantitatif

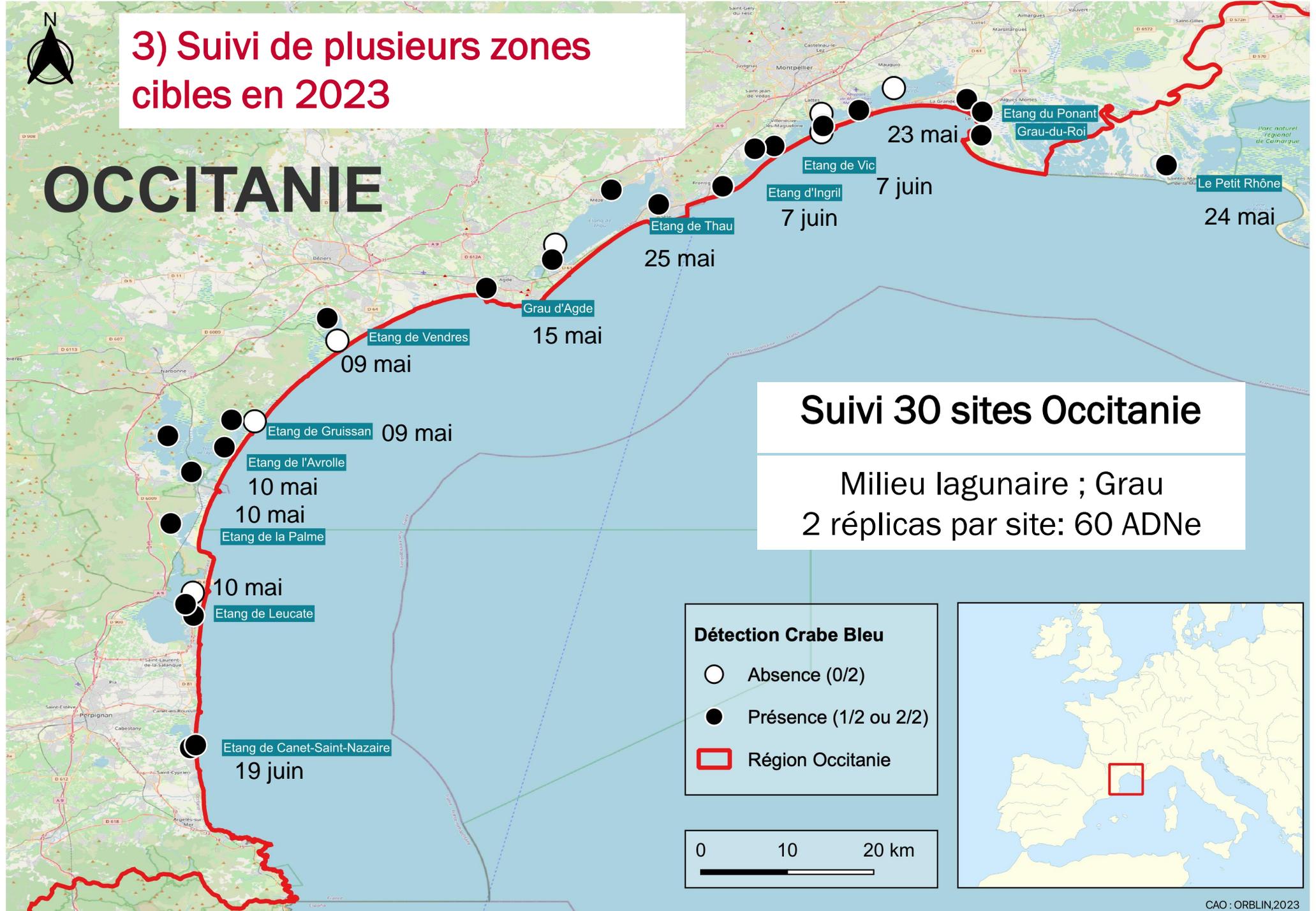
Expérimentation en conditions naturelles





3) Suivi de plusieurs zones cibles en 2023

OCCITANIE

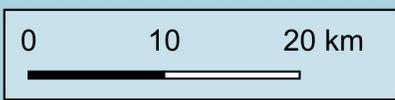


Suivi 30 sites Occitanie

Milieu lagunaire ; Grau
2 répliquas par site: 60 ADNe

Détection Crabe Bleu

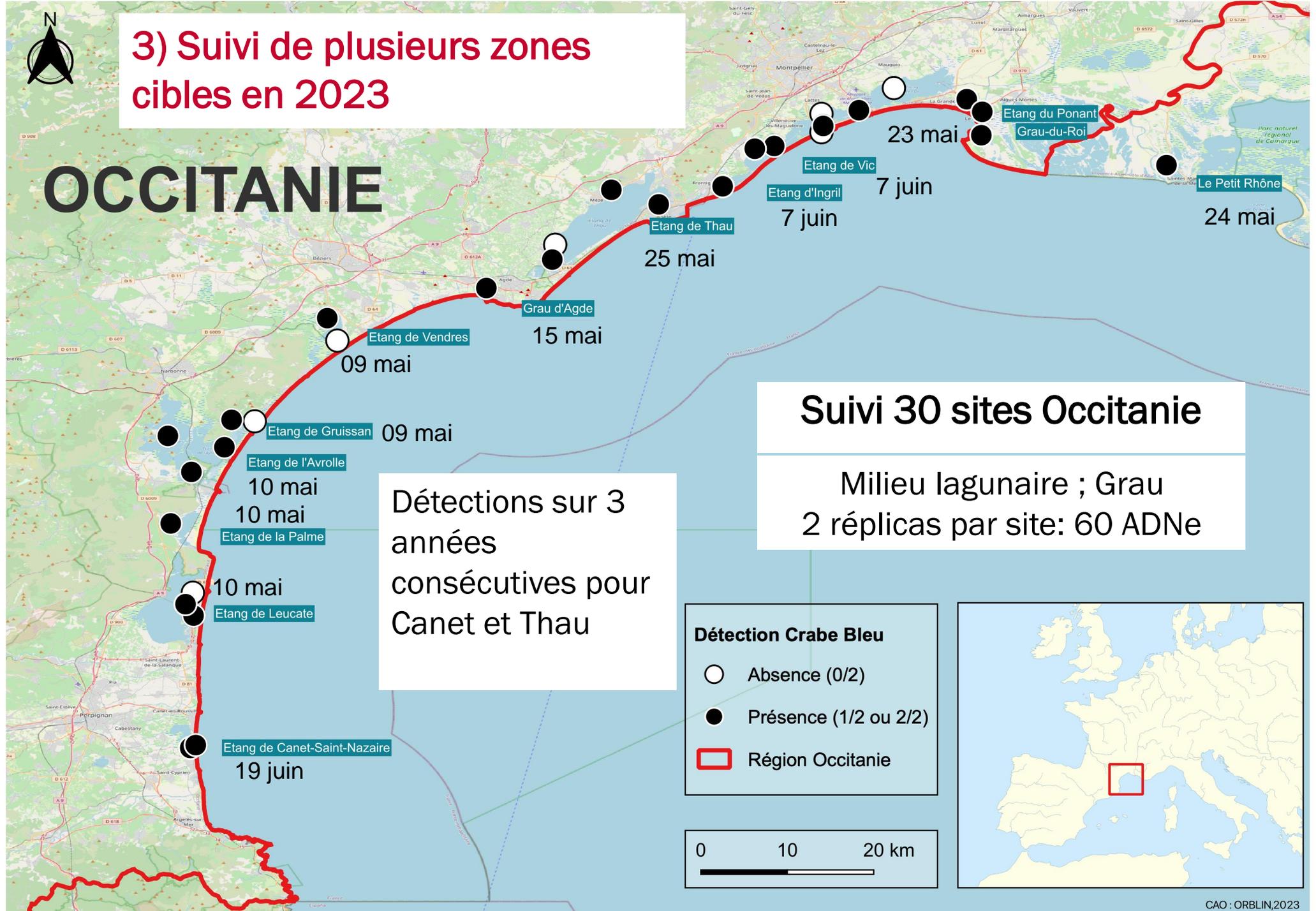
- Absence (0/2)
- Présence (1/2 ou 2/2)
- ▭ Région Occitanie





3) Suivi de plusieurs zones cibles en 2023

OCCITANIE



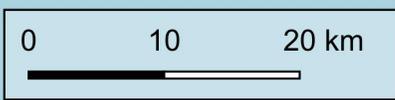
Détections sur 3 années consécutives pour Canet et Thau

Suivi 30 sites Occitanie

Milieu lagunaire ; Grau
2 répliquas par site: 60 ADNe

Détection Crabe Bleu

- Absence (0/2)
- Présence (1/2 ou 2/2)
- ▭ Région Occitanie





Important de faire plusieurs points par sites

- Hétérogénéité habitat;
- Densités / temporalité (présent mais pas détectable)

Multiplier les observations augmente la confiance dans les données (faux négatifs).



Comparaison données ADNe avec la littérature

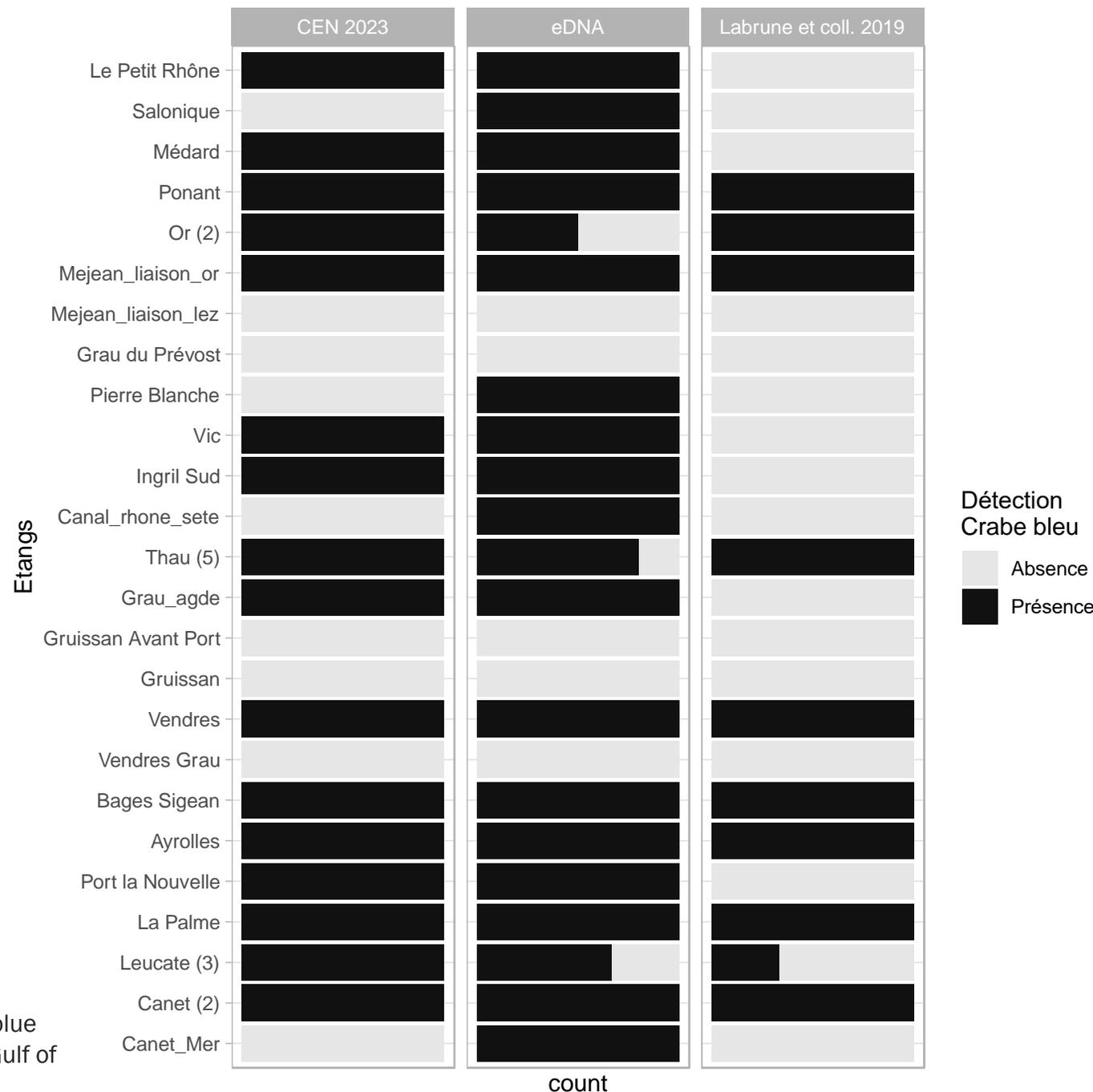
○ Labrune et al. 2019:

Crabe bleu détecté partout où il avait été référencé comme présent par Labrune et coll.2019

○ Données d'observations (CEN):

- pour les 5 Sites sans détection ADNe, pas de détections reportées par le CEN (Méjean liaison Lez, Grau du Prévost, Gruissan Avant Port, Gruissan et Grau de Vendres)

- Détection dans 4 sites avec l'ADNe et non reporté à ce jour (Salonique, Pierre Blanche, Canal du Rhône à Sète, et Canet Mer).



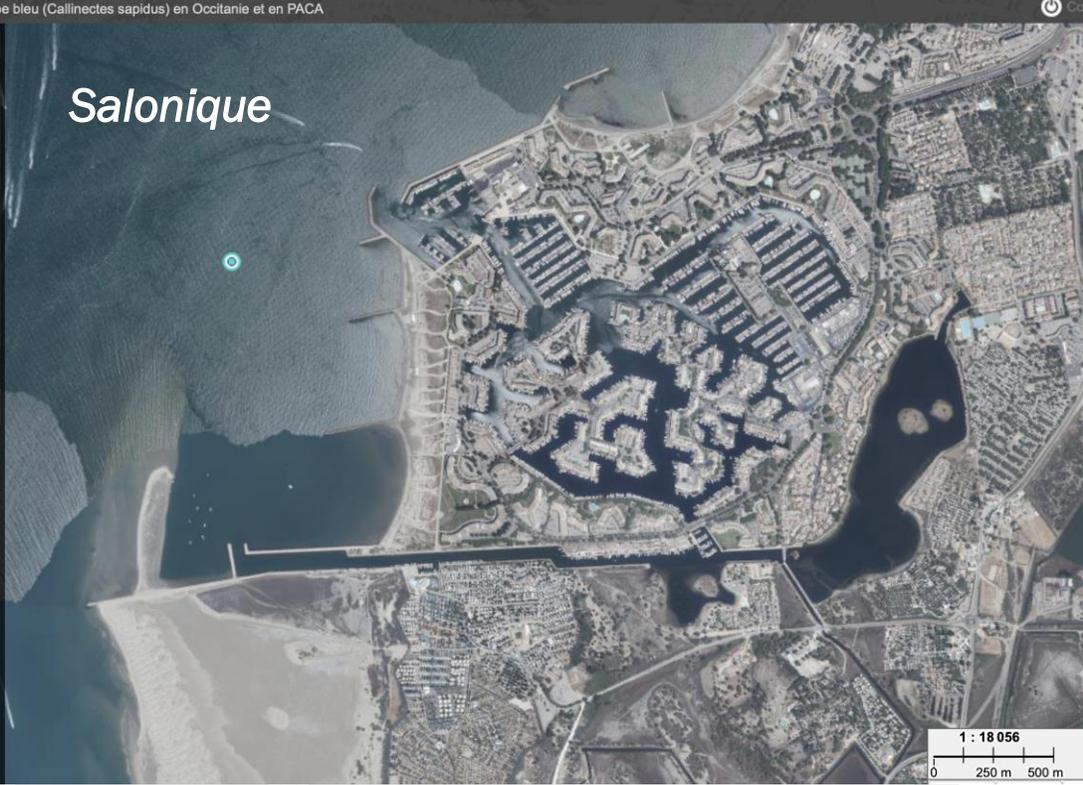


**PRÉFET
DE LA RÉGION
OCCITANIE**

*Liberté
Égalité
Fraternité*

Comparaison de

Crabe bleu Données d'observation et de capture du Crabe bleu



Location	Présence
Gruissan Avant Port	
Gruissan	
Vendres	
Vendres Grau	
Bages Sigean	
Ayrolles	
Port la Nouvelle	
La Palme	
Leucate (3)	
Canet (2)	
Canet_Mer	



(4) Développement de modèles d'occupation multi-échelles:

1/ Site

$$P(\text{Occurrence}) = \psi$$



Occurrence de l'ADNe de crabe
bleu sur le site, $I : 1, 2, 3 \dots I$



2/ Echantillon

$$P(\text{Capture}) = \theta$$



Capture de l'ADNe dans
l'échantillon, $J : 1, 2, 3 \dots J$



2 échantillons



3/ qPCR

$$P(\text{Détection}) = p$$



Détection de l'ADNe dans le réplicats,
 $R : 1, 2, 3 \dots R$



11 qPCR



(4) Développement de modèles d'occupation multi-échelles:

1/ Site

$$P(\text{Occurrence}) = \psi$$



Occurrence de l'ADNe de crabe
bleu sur le site, $I : 1, 2, 3 \dots I$



2/ Echantillon

$$P(\text{Capture}) = \theta$$



Capture de l'ADNe dans
l'échantillon, $J : 1, 2, 3 \dots J$



Impact des conditions
environnementales sur
l'occurrence, la capture et
la détection?



3/ qPCR

$$P(\text{Détection}) = p$$



Détection de l'ADNe dans le réplicats,
 $R : 1, 2, 3 \dots R$

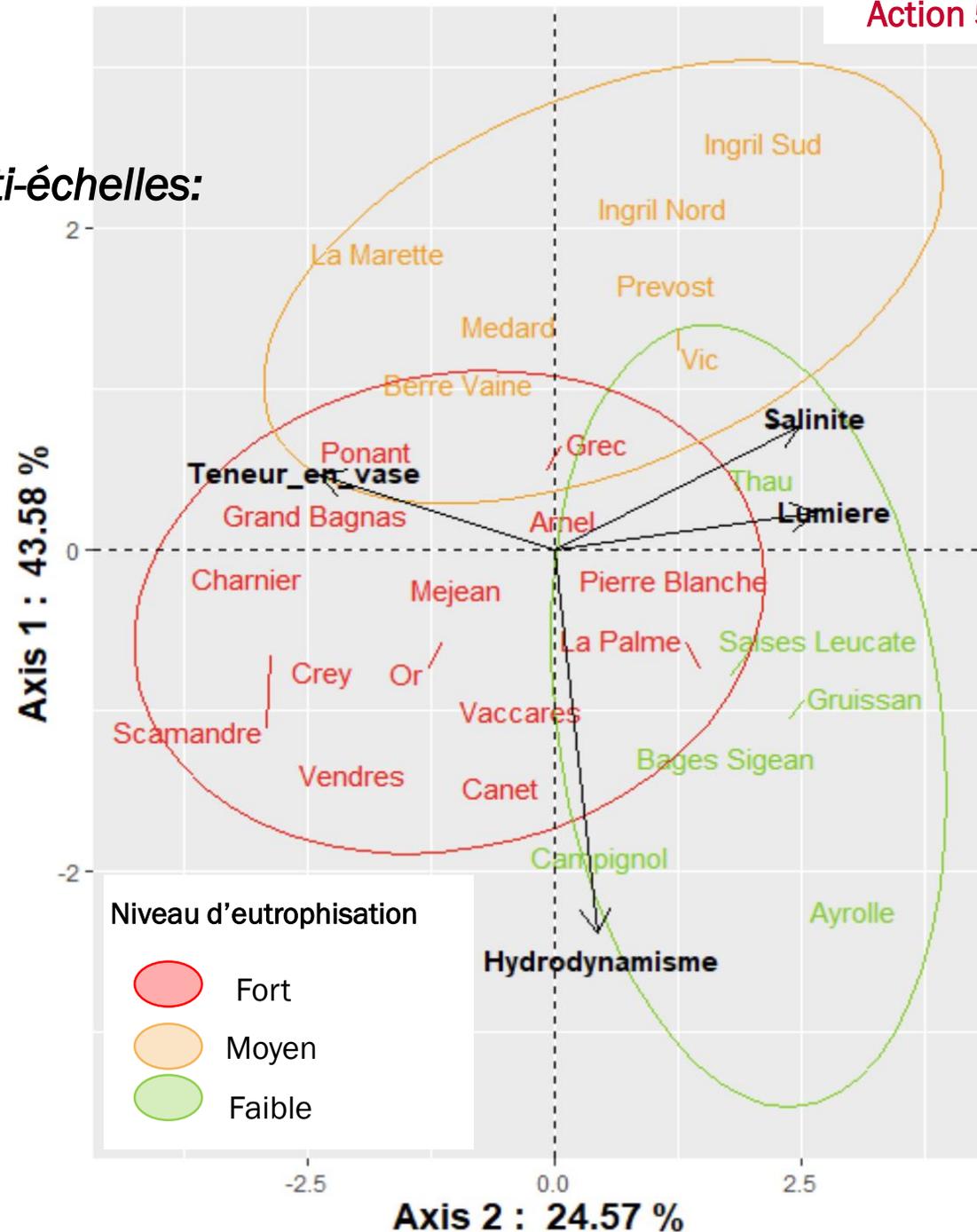




(4) Développement de modèles d'occupation multi-échelles:

Impact des conditions environnementales sur l'occurrence ? Capture ? Détection ?

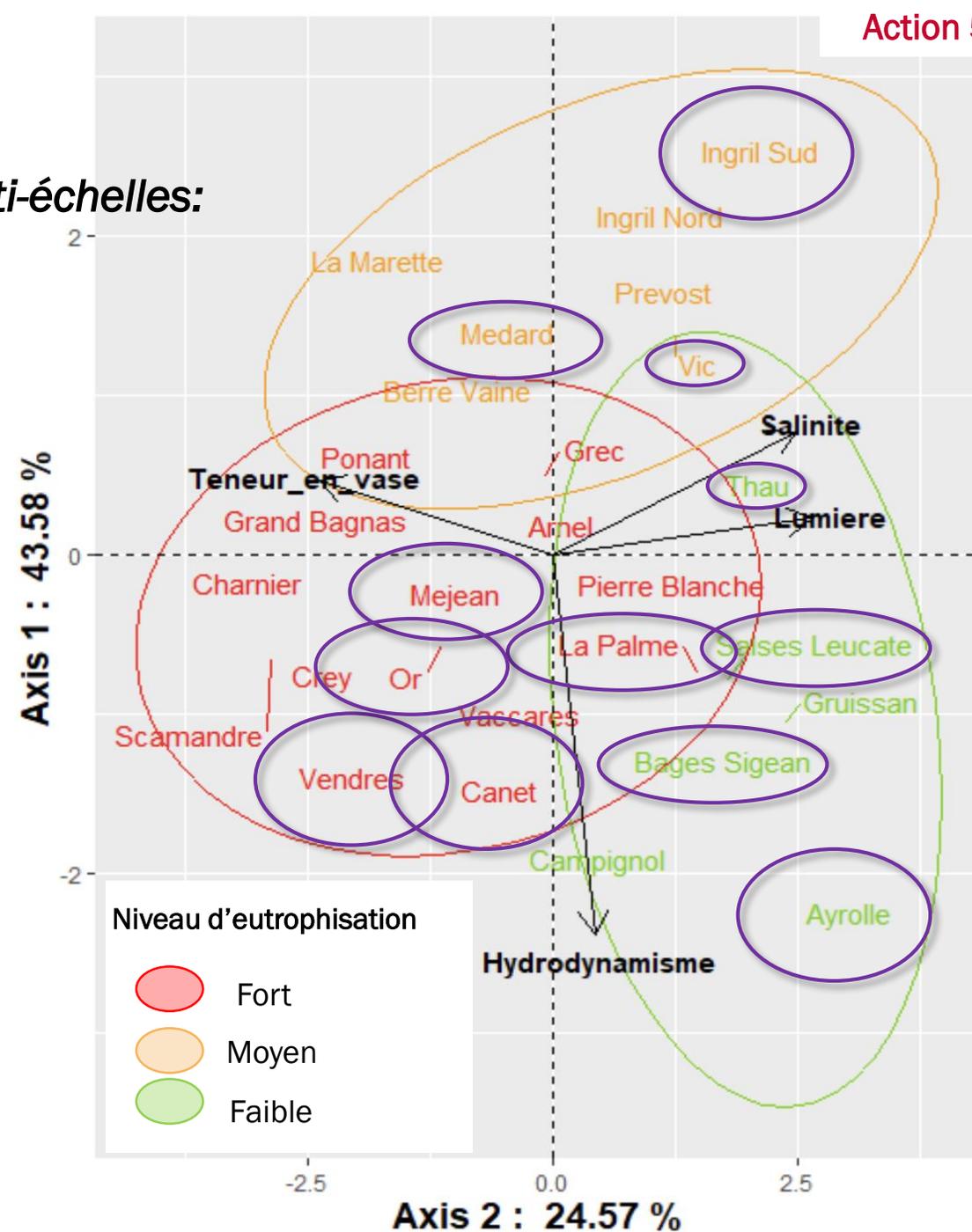
- Variance importante des conditions environnementales des lagunes (données SHAMILA)
- Toutes les variables sont explicatives



(4) Développement de modèles d'occupation multi-échelles:

Impact des conditions environnementales sur l'occurrence ? Capture ? Détection ?

- Variance importante des conditions environnementales des lagunes (données SHAMILA)
- Toutes les variables sont explicatives
- **Problème – Crabe bleu retrouvé dans un large panel d'étangs, dans à peu près toutes les nuances environnementales....**





Conclusions

- Notre équipe a développé un outil basé sur l'ADN environnemental précis, capable de détecter de façon précoce le crabe bleu, et pouvant être utilisé en routine pour réaliser des suivis.
→ transférables aux gestionnaires pour une surveillance et un suivi long terme
- Accéder à l'information densité avec cet outil est pour l'instant impossible, mais fait parti des fronts de recherche actuels
- Couplage modélisation et étude ADNe s'avère extrêmement intéressant

Perspectives

- Opportunité de vérifier la présence sur échelles spatiale et temporelle plus restreintes : focaliser sur des sites tels que les cours d'eau, passage au grau... en fonction de la saisonnalité de l'activité du CRB et des phases de son cycle de vie.
 - Mise en place de sites avec suivi long terme.
- Echantillonnages dans les zones à enjeux (impacts dans les zones conchyliculture / zones patrimoniales)



Merci aux gestionnaires qui nous ont accueilli et qui ont mis à disposition leurs bateaux

- PNR Narbonnaise
- OFB
- CEN Occitanie
- Parc naturel marin du golfe du lion
- Réart66
- Capitainerie Lattes
- ...



Merci aux stagiaires et doctorants

- André Reyes Camargo
- Bastien Mace
- Dimitri Médiétian
- Loic Sanchez



Merci aux gestionnaires qui nous ont accueilli et qui ont mis à disposition leurs bateaux

Merci aux stagiaires et doctorants pour leur aide

Merci pour votre patience - organiser du terrain dans une des régions les plus ventées de France demande pas mal de flexibilité!

