

## L'essor de l'ADN environnemental



ANNE-GAËLLE AMIOT

### Yann Chavance

Permettant de suivre des espèces à partir des traces génétiques laissées dans leur sillage dans le sol, l'eau ou l'air, l'ADNe connaît un engouement sans précédent. Développée dans les années 2000, la technique s'ouvre aujourd'hui à de nouveaux champs d'application

Une révolution dans l'air. En janvier, deux équipes indépendantes annonçaient avoir réussi à capter et séquencer de l'ADN présent dans l'atmosphère. En aspirant et filtrant l'air au beau milieu de deux parcs zoologiques européens, chaque équipe de recherche a identifié des traces ADN caractéristiques de dizaines d'espèces de mammifères, oiseaux ou reptiles desdits parcs. Cette prouesse, reproduite en milieu naturel et décrite dans une autre publication parue vendredi 11 mars, n'est que le dernier tour de force d'une jeune technique moléculaire qui ne cesse de repousser ses limites : l'ADN environnemental, ou ADNe.

Recenser tous les poissons, plantes et insectes d'un lac à partir de quelques litres d'eau, retracer la migration d'un papillon en récupérant sur son corps l'ADN des plantes qu'il a butinées, identifier les grenouilles d'une zone en séquençant les insectes qui les ont piquées... Ces études aux allures de tour de magie se comptent désormais par dizaines tous les mois, élargissant toujours plus le champ d'application de cet ADN environnemental, bien au-delà du simple outil de détection d'espèces qu'il était encore il y a quelques années.

« Les méthodes d'analyse sont complexes à maîtriser, mais le tout repose sur un principe très simple : les espèces vivantes laissent derrière elles des fragments d'ADN à travers les déjections, les poils, les écailles, la salive, l'urine... Ces fragments, que l'on extrait d'un échantillon de terre ou d'eau par exemple, constituent ce que l'on appelle l'ADNe », résume Pierre Taberlet, directeur de recherche émérite au CNRS. Le Français, qui travaille également avec l'université norvégienne de Tromsø, est l'un des pères fondateurs de l'ADN environnemental. Au sein du Laboratoire d'écologie alpine (LECA) qu'il a fondé à Grenoble, il publie en 2008 le premier suivi d'une espèce, l'envahissante grenouille-taureau, en utilisant des prélèvements d'eau. Pour cela, l'équipe du LECA emploie une méthode appelée barcoding, ou code-barres génétique. Le principe : cibler une partie bien précise du génome qui varie selon les espèces.

Chaque animal, plante ou bactérie ayant une séquence qui lui est propre – un code-barres spécifique à l'espèce –, retrouver une telle séquence dans un environnement donné prouve que l'espèce correspondante est présente ou y est passée récemment (détectable des jours, voire des semaines, après son passage).

Quinze ans après l'étude sur la grenouille-taureau, la méthode reste l'une des principales applications de l'ADNe : traquer la présence d'espèces sensibles, invasives ou rares à travers les traces génétiques qu'elles laissent dans l'environnement. Là où il fallait des jours à des naturalistes aguerris pour localiser certains animaux, quelques litres d'eau filtrés parviennent au même résultat. Mieux, le barcoding s'est depuis mué en métabarcoding. Autrement dit, tenter d'identifier dans un seul échantillon d'eau ou de terre l'ensemble des codes-barres génétiques présents... et donc inventorier l'intégralité des espèces présentes dans la zone – du moins, celles dont le code-barres est connu.

Les preuves de concept laissent désormais la place aux applications à grande échelle, pour mener avec l'ADNe de vastes inventaires de biodiversité à travers le monde. Ces derniers mois ont ainsi vu fleurir une poignée de programmes portés par des budgets dépassant les dix millions de dollars : eBio Atlas au Royaume-Uni, iTrackDNA au Canada, et l'Unesco monte même un programme autour de ses sites marins inscrits au Patrimoine mondial. « *On n'avait jamais vu ça !* », lâche Tony Dejean, ex-doctorant au LECA parti fonder, en 2011, sa propre société d'analyse d'ADNe, Spygen.

Lui aussi a lancé récemment un programme visant à recenser le vivant tout autour du globe. Nommée Vigilife, cette alliance public-privé pousse ces inventaires dans leurs derniers retranchements, visant l'exhaustivité. « *Plutôt que de se concentrer sur les vertébrés, la partie émergée de l'iceberg, nous utilisons l'ADNe pour recenser l'ensemble des espèces d'un écosystème, de la petite bactérie aux grands mammifères en passant par les mollusques* », explique Tony Dejean, qui, après une première campagne de prélèvements en novembre 2021 sur le fleuve Maroni, en Guyane, prépare de nouvelles missions en Colombie, au Portugal ou encore sur le fleuve Zambèze.

Si les initiatives privées se multiplient autour du métabarcoding et de l'ADNe, les laboratoires de recherche ne sont pas en reste : depuis les premiers tâtonnements de Pierre Taberlet au LECA, le nombre de publications scientifiques traitant de l'ADNe double environ tous les quatre ans. « *Cela devient impossible de tout suivre*, avoue le biologiste grenoblois. *Aujourd'hui, on voit passer en moyenne trois nouvelles publications par jour sur le sujet !* » Parmi ce flot continu, bon nombre d'études tentent de trouver de nouveaux moyens de récolter ces fameuses traces d'ADN laissées dans l'environnement, jusqu'alors principalement extraites de milieux aquatiques, parfois du sol.

Certains traquent ainsi l'ADN d'ours polaire dans les traces de pas dans la neige, d'autres identifient cerf, chevreuil et élan à partir de la salive laissée sur les arbustes broutés, ou encore dressent un inventaire de la biodiversité marine en séquençant les éponges qui, en bonnes filtreuses des océans, concentrent l'ADNe. Fin 2020, une équipe britannique évaluait même l'impact de la dégradation des forêts sur l'île de Bornéo à partir de sangsues : ces dernières, prélevées sur différents sites plus ou moins dégradés, gardent les traces ADN des grands mammifères dont elles sucent le sang, révélant indirectement la diversité animale aux alentours. Une autre équipe étudiait, un an plus tôt, la génétique des requins-baleines non pas en prélevant classiquement un morceau de chair, mais en retrouvant leur ADN sur les petits crustacés parasitant leur peau.

## De l'ADN dans l'air ambiant

Récupérer de l'ADN à partir de l'air ambiant n'est donc que la dernière expérimentation en date dans la longue liste de moyens détournés d'accéder aux traces génétiques de l'environnement. Pour l'instant, les spécialistes saluent cette nouvelle porte ouverte, mais restent pour la plupart prudents sur la généralisation de cette technique. « *Les deux études parues en janvier ont été menées dans des conditions très particulières, dans des zoos*, souligne Pierre Taberlet. *Avec le LECA, nous avons déjà essayé de filtrer l'air pour récupérer de l'ADN il y a quelques années en Guyane, donc en conditions naturelles, sans obtenir de résultats probants.* » Même prudence du côté de Spygen, qui, toutefois, « *a plusieurs projets en cours autour de l'ADNe aérien, mais plutôt dans des milieux contrôlés comme des grottes* », révèle Tony Dejean.

Une équipe de l'université de Lund, en Suède, a pour sa part publié vendredi 11 mars une nouvelle étude sur l'ADNe aérien, cette fois en milieu naturel. Les chercheurs se sont concentrés sur les insectes, mettant en place dans les forêts scandinaves un système d'aspiration et de filtration de l'air, en parallèle

de protocoles classiques d'inventaire (pièges lumineux et recensements à vue). Résultat : l'équipe a pu identifier 75 espèces d'insectes grâce à leur ADN flottant dans l'air, sans compter quelques intrus vertébrés – chien, hérisson ou pigeon. Cependant, si cet ADN aérien a permis de recenser plusieurs espèces passées inaperçues avec les méthodes d'inventaire traditionnelles, ces dernières ont aussi identifié de nombreuses espèces d'insectes dont l'ADN n'a pas été retrouvé dans l'air. « *C'est une première preuve de concept avec, je pense, un grand potentiel, mais qu'il va falloir désormais optimiser* », estime Fabian Roger, le chercheur à la tête de cette étude, aujourd'hui installé en Suisse à l'ETH Zürich justement pour explorer tout le potentiel de l'ADN aérien. Y aurait-il de quoi concurrencer l'ADN aquatique, utilisé en routine depuis des années dans les océans, les rivières et les lacs, y compris pour recenser des vertébrés terrestres ? « *Concurrencer, non, mais pourquoi pas compléter, notamment dans les nombreux cas de figure où on ne peut pas du tout utiliser l'ADN aquatique. Le futur nous dira à quel point cela pourra être utile sur le terrain.* »

Passé la question de comment récupérer l'ADN environnemental s'en pose une autre, essentielle : quels enseignements en tirer ? Dans l'avalanche d'études sur le sujet, de plus en plus de travaux sortent des classiques suivis d'espèces et inventaires de biodiversité, et utilisent l'ADN comme un outil pour éclairer des problématiques plus globales. « *Il y a encore quelques années, il fallait compter plusieurs centaines d'euros pour analyser un échantillon, aujourd'hui on peut le faire pour moins de dix euros. C'est évident que cela démocratise la technique et permet de l'envisager pour des applications plus diverses* », rappelle l'ingénieur de recherche à l'Institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement (Inrae) Maxime Galan, impliqué dans de nombreuses études utilisant l'ADN. En guise d'échelle, le premier séquençage d'un génome humain, achevé en 2003, a coûté 2,7 milliards de dollars. Ce même séquençage se ferait aujourd'hui pour moins de mille dollars. Ce qui était au départ une technologie réservée aux grosses équipes à la tête d'un budget conséquent devient donc désormais presque un outil comme un autre.

Maxime Galan l'a par exemple utilisé pour étudier l'écologie d'une chauve-souris dans l'ouest de la France, le grand rhinolophe. Plus précisément, les variations de son régime alimentaire selon son environnement. L'équipe française a pour cela comparé l'ADN présent dans le guano de six colonies distantes de chauves-souris, retrouvant par le menu toutes les espèces d'insectes dévorés. « *Nous avons ainsi identifié un régime alimentaire principal, commun à toutes les colonies, et un régime secondaire plus opportuniste, lié au milieu de vie des animaux* », résume Maxime Galan. Autre exemple, l'ingénieur a également participé à une série de travaux menés dans les champs de mil, au Sénégal. L'ADN a patiemment permis de retracer les liens complexes de prédation et de parasitisme de dizaines d'espèces – insectes, araignées, oiseaux, parasites... – au sein de cet écosystème bien particulier, révélant par là même les ennemis naturels de la chenille mineuse de l'épi du mil, principal ravageur de cette céréale.

## Voir la biodiversité dans un pot de miel

Dans le même ordre d'idée, plusieurs équipes utilisent aujourd'hui l'ADN pour décrire des réseaux de pollinisation, à la base de tous les écosystèmes. Autrement dit, comprendre quels animaux butinent quelles plantes. Pour cela, certains récupèrent et identifient sur les insectes volants l'ADN des plantes visitées, quand d'autres retrouvent à l'inverse de l'ADN d'insecte directement sur les fleurs. Mieux, il est possible d'identifier les fleurs butinées par les abeilles d'une ruche à travers l'ADN contenu dans un pot de miel... voire de retrouver la trace des petits insectes qui produisent du miellat (comme les pucerons) que les abeilles récupèrent parfois entre deux fleurs. De quoi dresser les prémices d'un inventaire de biodiversité à partir de quelques cuillères de miel...

« *Actuellement, il y a aussi un vrai essor sur l'aspect quantitatif de l'ADN, qui risque de prendre de l'ampleur dans les années à venir*, ajoute Pierre Taberlet. *Il s'agit de voir si la quantité d'ADN récupéré est révélatrice de l'abondance des espèces présentes.* » Cette corrélation pourrait par exemple permettre, au moyen d'un prélèvement d'eau dans un lac, non seulement d'inventorier les poissons y vivant, mais également d'identifier les espèces les plus abondantes. Pour l'heure, les résultats varient encore beaucoup d'une expérience à l'autre selon les espèces ciblées, et la plupart des études trouvant une telle corrélation sont menées en laboratoire, pas en milieu naturel. Quelques travaux commencent pourtant à montrer tout l'intérêt de cet axe de recherche. En 2019, une équipe japonaise décrivait par exemple comment elle avait pu étudier finement les grandes migrations du shishamo, un poisson endémique d'Hokkaido remontant les rivières à la manière des saumons. L'ADN dans ces rivières avait permis aux chercheurs de localiser l'espèce, mais aussi d'estimer la masse de poissons sur chaque site, confirmée par des comptages manuels en parallèle.

Enfin, ADNe et métabarcoding démontrent depuis quelques années leur intérêt dans un domaine plutôt inattendu : la qualité de l'air, de l'eau et des sols. Plusieurs équipes ont déjà mis en lumière les possibilités de suivi de divers allergènes présents dans l'air : pollen, spores de champignons ou micro-organismes. Sous l'eau, l'impact de la pisciculture a été évalué en Ecosse à proximité de grandes fermes d'élevage de saumons en révélant, à travers l'ADNe, une baisse de la diversité en foraminifères, des organismes aquatiques unicellulaires.

En Norvège, c'est la composition de la petite faune invertébrée marine, inventoriée grâce au métabarcoding, qui a permis d'évaluer l'impact de puits de pétrole offshore. Il faut dire que de nombreux organismes, en particulier certaines bactéries, s'avèrent être de parfaits indicateurs de certains polluants : leur présence – ou au contraire leur absence – peut ainsi révéler une fuite de pétrole, une contamination aux métaux lourds et parfois même la présence de déchets radioactifs.

Plus globalement, l'ADNe devient depuis peu un instrument d'évaluation de la qualité des sols particulièrement prisé. *« Il y a aujourd'hui une énorme demande qui vient de tous les côtés : des industriels, des pouvoirs publics, du monde agricole... »*, note Aurélie Bonin. Cette ancienne thésarde de Pierre Taberlet, passée dans le privé, est directrice générale de la société d'analyse Argaly, dont l'ADNe du sol est l'une des spécialités. *« Nous avons plusieurs projets en cours avec des industriels qui veulent surveiller des processus de dépollution de sols. Sur des terres qui ont été excavées, traitées, où la vie a presque totalement disparu, l'ADNe permet de suivre le retour progressif du vivant. »*

La société Argaly vient notamment de lancer un projet avec l'Agence de la transition écologique (Ademe) sur l'évaluation de plusieurs chantiers de restauration des sols en France. A Bordeaux par exemple, c'est un ancien site industriel qui ambitionne de se transformer en parc urbain. *« Pour ce genre de suivi, nous nous focalisons sur plusieurs types d'organismes du sol, notamment des espèces dites "clé de voûte", qui tiennent un rôle central dans l'organisation et l'équilibre du milieu. Si l'on trouve beaucoup de vers de terre par exemple, cela sera révélateur d'un sol bien aéré, avec beaucoup de matière organique, favorable au développement de plantes. »* A l'université de Genève, en Suisse, une équipe tente d'effectuer ce même travail avec une intelligence artificielle, l'entraînant à évaluer la qualité intrinsèque d'un échantillon de sol ou d'eau en se basant sur les traces ADN qu'il contient.

Pour Aurélie Bonin, voir l'ADN environnemental ainsi poussé bien loin de ses domaines d'application initiaux n'est finalement pas si étonnant. *« Je crois que c'est souvent le cas en science quand apparaît un nouvel outil : il y a au début une forme d'excitation durant laquelle on teste ses possibilités, puis, lorsque la technologie devient plus mature, on s'en sert pour répondre à de nouvelles questions. Aujourd'hui, faire l'inventaire des poissons dans une rivière avec l'ADNe n'intéresse plus grand monde en science fondamentale, si l'on ne va pas plus loin que ça. »* Partant de ce principe et au vu de l'intérêt toujours grandissant des chercheurs pour le domaine, l'ADN environnemental devrait encore réserver quelques belles surprises dans les années à venir.