

## Livrable 1 – Cartographie données BenthosTorch

La BenthosTorch est une sonde de mesure de fluorescence portable qui mesure *in situ* la fluorescence de la chlorophylle-a sur des substrats comme les pierres et les sédiments. Les microalgues se développant dans le biofilm à la surface des pierres possèdent des pigments différents qui affectent l'intensité de fluorescence, ce qui permet de quantifier leur biomasse. Il est possible de caractériser de 3 grands groupes algaux : diatomées, algues vertes et les cyanobactéries benthiques. Les mesures sont renseignées en [ $\mu\text{g chl-a} / \text{cm}^2$ ] pour chaque classe algale, ce qui permet de calculer leur proportion relative dans le biofilm.

Lors des campagnes d'échantillonnages réalisés en 2025 par INRAE CARTEL, UNIGE et SCIMABIO Interface, les mesures de BenthosTorch ont pu être mesurées sur 74 sites sur la zone littoral du Léman ainsi que certains affluents (Figure 1). Les résultats préliminaires permettent de mettre en avant une forte dominance des communautés de diatomées et de cyanobactéries benthiques dans les biofilms, les algues vertes étant moins représentées. Les cyanobactéries benthiques sont détectées dans tous les échantillons testés, représentant en moyenne 36,7% de l'assemblage et plus de 50% de l'assemblage pour 14 des 73 échantillons.

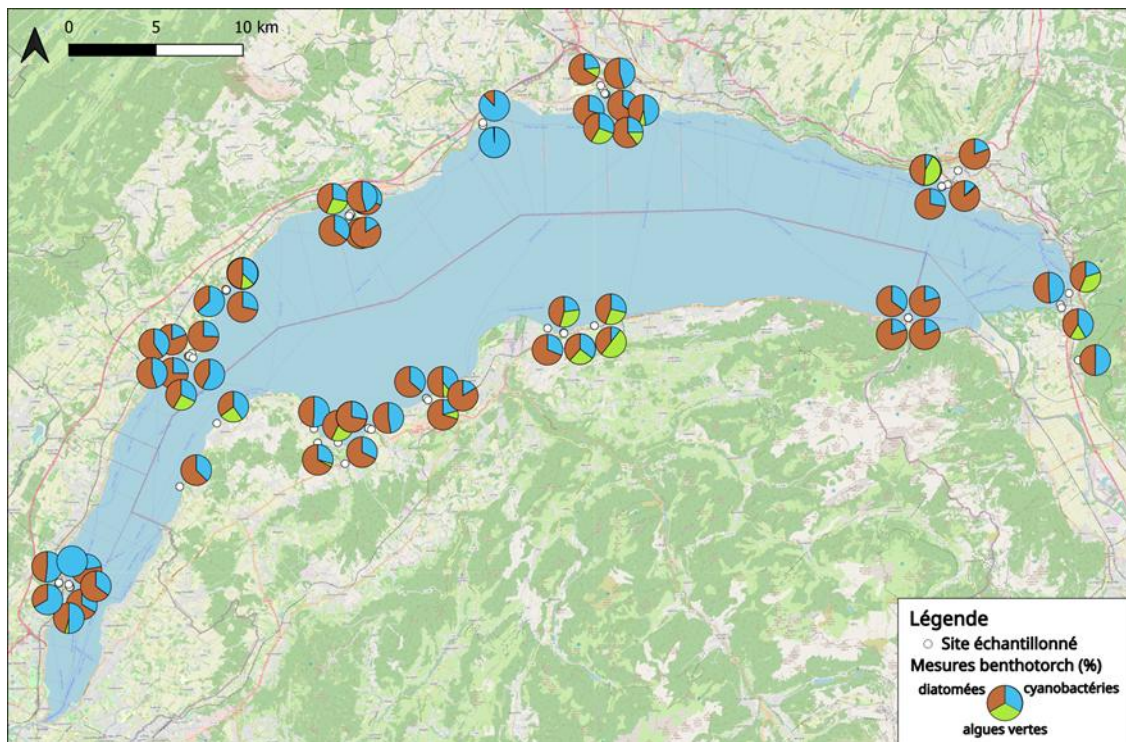


Figure 1 – Cartographie de détections des diatomées, algues vertes et cyanobactéries benthiques mesurées à la BenthosTorch sur des biofilms de pierres collectés dans la zone littoral du lac Léman et certains de ses affluents. Les résultats sont présentés en proportion relative (%) de fluorescence.

Livrable 2 – Inventaires de bactéries et de cyanobactéries benthiques par métabarcoding ADN (short read – Illumina)

Les inventaires de diversité bactériens ont été obtenus par métabarcoding à partir de l'ADN extrait des échantillons de biofilm collectés en 2025, même échantillons utilisés pour les mesures de Benthotorch. A partir de l'ADN, la région génétique 16S V3-V4 est amplifiée par PCR puis séquencée avec la technologie Illumina Nextseq. Les séquences ADN obtenues où « reads » sont ensuite traités bio-informatiquement (DADA2) pour nettoyer les données, les reads de bonne qualité conservée sont finalement confrontées à une base de référence taxonomique (Cyanoseq, Sylva, base interne) qui permet d'attribuer une taxonomie à chaque read obtenue. Un inventaire taxonomique est obtenu permettant de renseigner la proportion relative de reads pour chaque taxon bactérien dans chaque échantillon. A partir de cet inventaire bactérien, il est possible de n'extraire que les taxons cyanobactériens pour étudier leur diversité et abondance relative.

Les résultats préliminaires obtenues permettent d'identifier les phyla bactériens les plus dominants dans les biofilms aquatiques du lac Léman en 2025 (Figure 2). Les cyanobactéries benthiques sont fortement représentées et représentent en moyenne 13,1% des communautés bactériennes totales. Au sein des cyanobactéries benthiques, l'analyse au niveau du genre a permis de mettre en avant une forte proportion du genre *Tychonema* (33,5%) dont une grande proportion d'espèces sont connues pour être productrice de toxine de type Anatoxine (Figure 3). Toutefois le marqueur métabarcoding 16S V3-V4 ne permet pas une assignation taxonomique précise au sein du genre *Tychonema*, d'autres analyses sont nécessaires pour valider la présence de taxons toxigéniques.

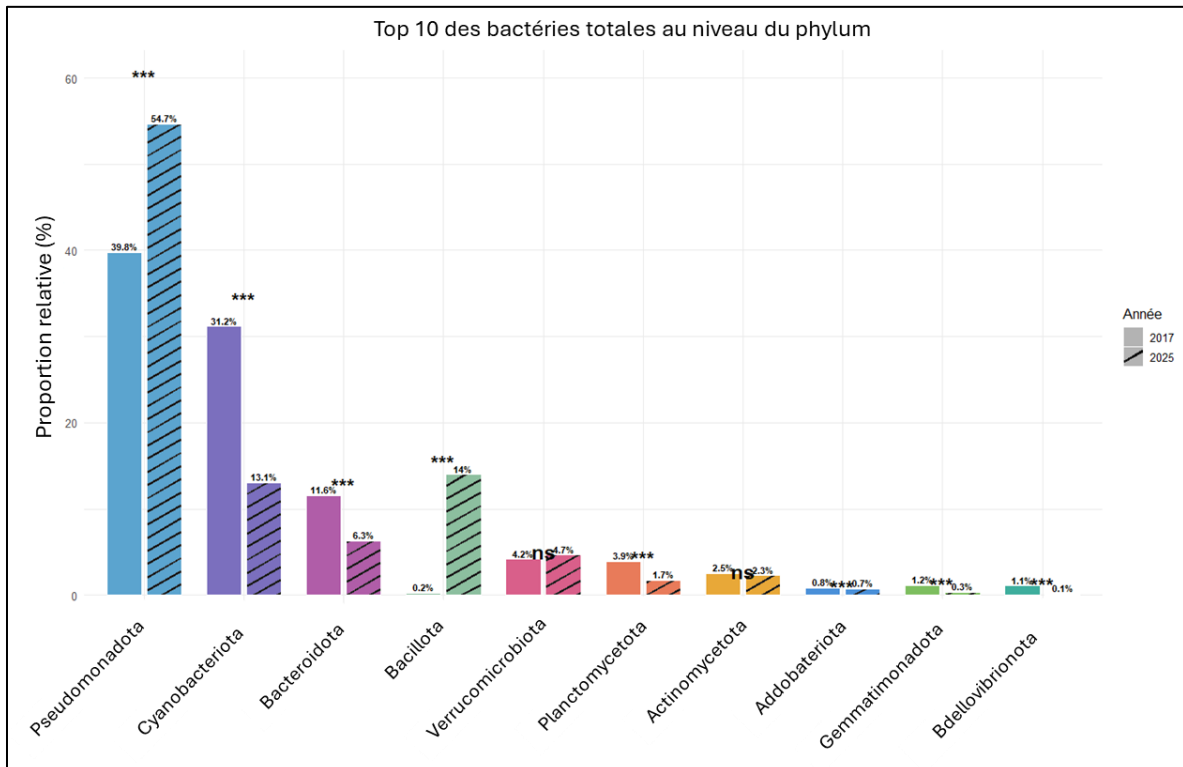


Figure 2 – Abondance relative des 10 phyla bactériens dominants dans les inventaires métabarcoding 16S V3-V4 obtenus à partir des échantillons de biofilms collectés en 2025. Les résultats sont comparés à titre indicatif aux inventaires métabarcoding obtenus à partir des échantillons de biofilm du projet Interreg Synaqua réalisé en 2017 sur la zone littorale lémanique.

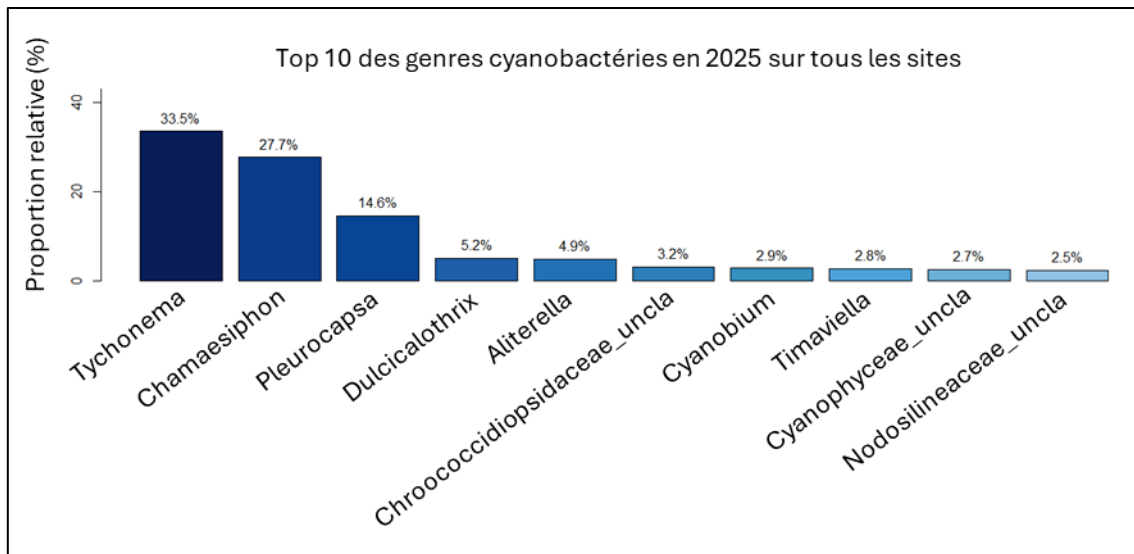


Figure 3 – Abondance relative des 10 genres de cyanobactéries benthiques dominants identifiés dans les inventaires métabarcoding 16S V3-V4 obtenus à partir des échantillons de biofilms collectés en 2025.

### Livrable 3 – Cartographie de détection de gènes de toxicité associés aux cyanotoxines par ddPCR

La digital PCR (dPCR) et plus précisément la digital droplet PCR (ddPCR, Biorad) permet de fractionner sous forme de gouttelette un échantillons ADN pour améliorer la sensibilité de détection de molécule ADN peu abondante. En utilisant des amorces et sondes génétiques fluorescentes, il est possible d'obtenir une quantification absolue du nombre de copie du gène ciblé dans un échantillon ADN. A partir des échantillons collectés en 2025, il a été décidé de cibler 3 marqueurs génétiques par ddPCR afin de caractériser finement des gènes de toxicité associés à la production de cyanotoxines : Anatoxine (*ana C*), Microcystine (*mcy A*) et saxitoxine (*sax AB*).

Les résultats préliminaires obtenues sur les 72 échantillons analysés ont permis de détecter la présence du gène *ana C* dans 34 échantillons et du gène *mcy E* dans 1 échantillons aucune détection du gène *sax AB* n'a été obtenue (Figure 4). Ces résultats sont cohérents avec les résultats précédents (Livrables 1, 2, 3) et permettent de valider la présence de cyanobactéries benthiques à risque toxigène (production Anatoxine) dans les biofilms de la zone littorale du lac Léman. Toutefois la présence des gènes de toxicité n'indique pas que les cyanotoxines sont produites, des mesures directes de la présence de toxines seront réalisées en 2026 sur les échantillons 2025. De plus il est important d'indiquer que ces résultats ne peuvent servir en l'état pour prédire un risque pour la santé humaine ou animale qui est déterminé à partir de prélèvement d'eau. Le risque toxique associé au cyanobactérie benthiques est encore inconnue, d'autant que sur le Léman ces communautés semblent être présentes naturellement historiquement comme le montre la détection des gènes de toxicités sur les échantillons de biofilms du projet Inetrreg Synaqua qui datent de 2017 (Figure 5).

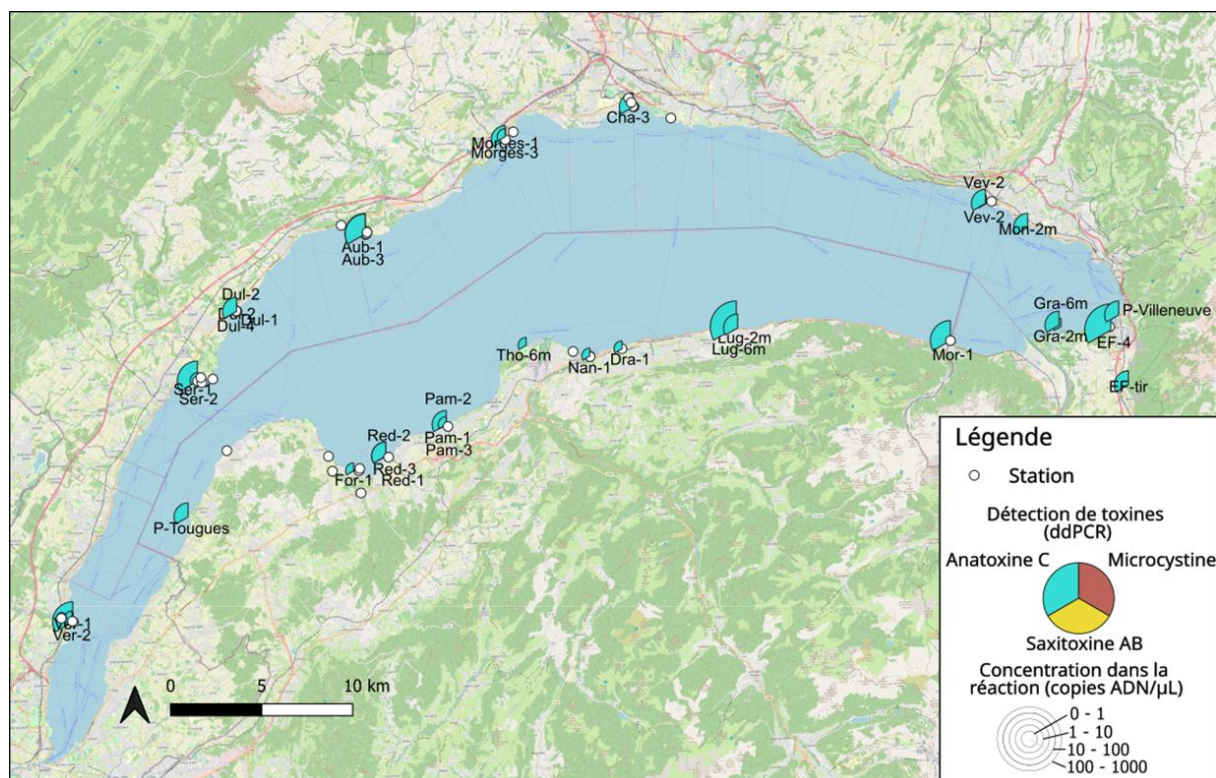


Figure 4 – Cartographie de détection de gènes de toxicité par ddPCR associés à la production de cyanotoxines dans les échantillons 2025 : Anatoxine (*ana C*), Microcystine (*mcy A*) et saxitoxine (*sax AB*). Les résultats sont présentés en copies ADN.µL-1 d'ADN, la taille des segments de cercle étant proportionnelle à la concentration.

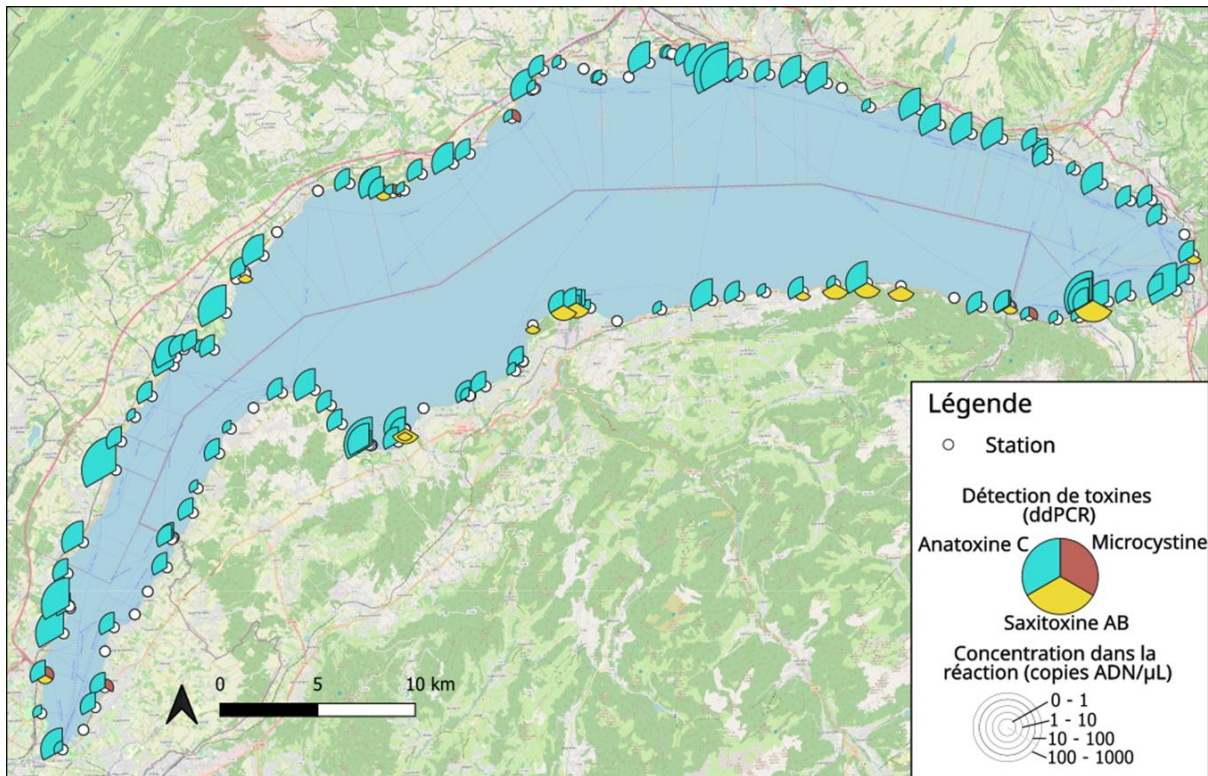


Figure 4 – Cartographie de détection de gènes de toxicité par ddPCR associés à la production de cyanotoxines dans les échantillons de biofilm du projet Interreg Sinaqua de 2017 : Anatoxine (ana C), Microcystine (mcy A) et saxitoxine (sax AB). Les résultats sont présentés en copies ADN.μL-1 d'ADN, la taille des segments de cercle étant proportionnelle à la concentration.