



**HAL**  
open science

# Diagnoses des trajectoires écologiques des lacs et leur bassin versant via l'analyse de l'ADN préservé dans les sédiments : Synthèse & Guide d'application pour les diagnostics ADN en paléolimnologie

Isabelle Domaizon, Cécilia Barouillet

## ► To cite this version:

Isabelle Domaizon, Cécilia Barouillet. Diagnoses des trajectoires écologiques des lacs et leur bassin versant via l'analyse de l'ADN préservé dans les sédiments : Synthèse & Guide d'application pour les diagnostics ADN en paléolimnologie. INRAE. 2021. hal-04698228

**HAL Id: hal-04698228**

**<https://hal.inrae.fr/hal-04698228v1>**

Submitted on 15 Sep 2024

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



## **Diagnoses des trajectoires écologiques des lacs et leur bassin versant via l'analyse de l'ADN préservé dans les sédiments**

Synthèse & Guide d'application pour les diagnostics ADN en paléolimnologie

Isabelle Domaizon, Cécilia Barouillet  
INRAE, UMR Carrtel, Pole ECLA, Thonon les bains

# SOMMAIRE

<b>I. Contexte et enjeux autour de l'application des diagnostics écologiques par l'ADN sédimentaire.</b> .....	<b>4</b>
I.1 L'ADN sédimentaire : intérêt, origine et composition .....	6
I.2 Quelques questions récurrentes et réponses .....	6
I.3 Analyse de l'ADN Sédimentaire : Précautions méthodologiques pour les paléo-reconstructions .....	8
I.4 . Quelles méthodes moléculaires pour l'analyse de l'ADN sédimentaire.....	10
I.5 Quelques faits scientifiques marquants .....	10
<b>II. Reconstitution de la diversité aquatique : les principales avancées pour l'étude de lacs français.</b> .....	<b>11</b>
<b>III. Promouvoir l'intégration de l'analyse ADN sédimentaire dans les diagnostics écologiques et surveillances des lacs</b> .....	<b>14</b>
<b>IV. Conclusion</b> .....	<b>16</b>
<b>V. Annexes</b> .....	<b>16</b>
<b>VI. Références bibliographiques</b> .....	<b>20</b>



# I. Contexte et enjeux autour de l'application des diagnostics écologiques par l'ADN sédimentaire.

Les lacs hébergent une large biodiversité qui orchestre le fonctionnement de ces écosystèmes via de nombreuses interactions biotiques impliquées dans le maintien des processus biogéochimiques, des fonctions écologiques (production, régulation des polluants, devenir du carbone, etc) et *in fine* des services écosystémiques assurés par les lacs (Mace et al. 2012).

La démarche d'observation de la biodiversité est essentielle pour décrire et comprendre les tendances évolutives du fonctionnement des lacs et révéler l'effets des pressions anthropiques et climatiques qu'ils subissent. Les suivis biologiques ont toutefois été organisés, dans le meilleur des cas, à partir des années 50-60s (en Europe) lorsque les effets de l'eutrophisation des eaux ont été perçus. Les états dits de « références » ou de « pré-perturbations anthropiques » sont donc manquantes ou peu documentés pour ces écosystèmes. Par ailleurs, ces suivis biologiques sont principalement centrés sur quelques groupes indicateurs de la qualité des eaux (au sens DCE), notamment les groupes phytoplanctoniques de grande taille (identifiables en microscopie sur des critères morphologiques), reflétant ainsi seulement une partie de la diversité planctonique. A l'heure actuelle la mise en application des outils de séquençage haut débit et du métabarcoding permet d'étudier de manière plus exhaustive cette diversité biologique, en incluant dans les inventaires de biodiversité, notamment, l'ensemble des micro-organismes planctoniques ou benthiques qui ont des rôles clés et variés dans le fonctionnement des lacs (en tant que producteurs primaires, bactérivores, parasites, saprotrophes, ...). Cependant ces inventaires moléculaires basées sur les méthodes dites d'ADN environnemental (ADNe), lorsqu'ils sont utilisés concernent encore souvent des pas de temps courts (de la saison à quelques années).

Qu'il s'agisse de données nouvelles générations comme les inventaires produits par l'ADNe, ou de données plus classiques (inventaires microscopiques du plancton par exemple), le manque de données à long-terme couvrant des périodes pertinentes pour suivre la trajectoire écologique des lacs (plusieurs décennies voire siècles) est critique. Il limite souvent notre capacité à (i) quantifier les changements, et les dater (ii) comprendre les processus écologiques impliqués dans les changements d'état des lacs (iii) fournir des données pour développer et/ou alimenter des modèles écologiques, et finalement pour éclairer la prise de décision et la gestion des écosystèmes.

Pour pallier ce déficit de données à long terme, le couplage entre l'approche paléolimnologique et l'analyse d'indicateurs biologiques préservés dans les archives sédimentaires a déjà démontré son intérêt. Les sédiments lacustres constituent en effet une archive naturelle pertinente pour retracer les impacts de l'anthropisation (Smol 2008; Encart 1).

## Encart.1

La paléolimnologie est la science qui étudie les paramètres biologiques et physico-chimiques préservés dans les sédiments lacustres afin de reconstruire la trajectoire écologique des lacs (Smol 1992). Les archives sédimentaires offrent ainsi une perspective sur le long terme, permettant notamment d'accéder à des informations sur les états de références (i.e., précédant les pressions liées aux activités humaines, Arseneau et al. 2014). Si les approches paléolimnologiques ne sont pas nouvelles en elle-même, et ont déjà apporté apporter un grand nombre d'avancées en ouvrant de nouvelles perspectives de gestions avec des informations inédites sur la résilience des lacs face au changement globaux, les seuils critiques de transitions, ainsi que les timings des changements (Perga et al. 2015; Jenny et al. 2016; Taranu et al. 2018). Récemment, des évolutions majeures se sont opérées concernant les indicateurs biologiques retrouvés dans les archives sédimentaires, en particulier via l'application des méthodes ADN pour reconstituer la dynamique temporelle d'une très large biodiversité aquatique (Domaizon et al. 2017).

L'intégration des analyses ADN dans le corpus des méthodes applicables pour étudier les archives sédimentaires représente une opportunité unique et dont le potentiel a récemment été mis en lumière au travers de divers travaux scientifiques en France (voir Partie II) et au niveau international (Capo et al. 2021). L'analyse de l'ADN préservé dans les sédiments s'avère aujourd'hui très fructueuse pour reconstituer la biodiversité lacustre passée, y compris pour des organismes ne laissant pas de traces (macro-restes) visibles dans les sédiments.

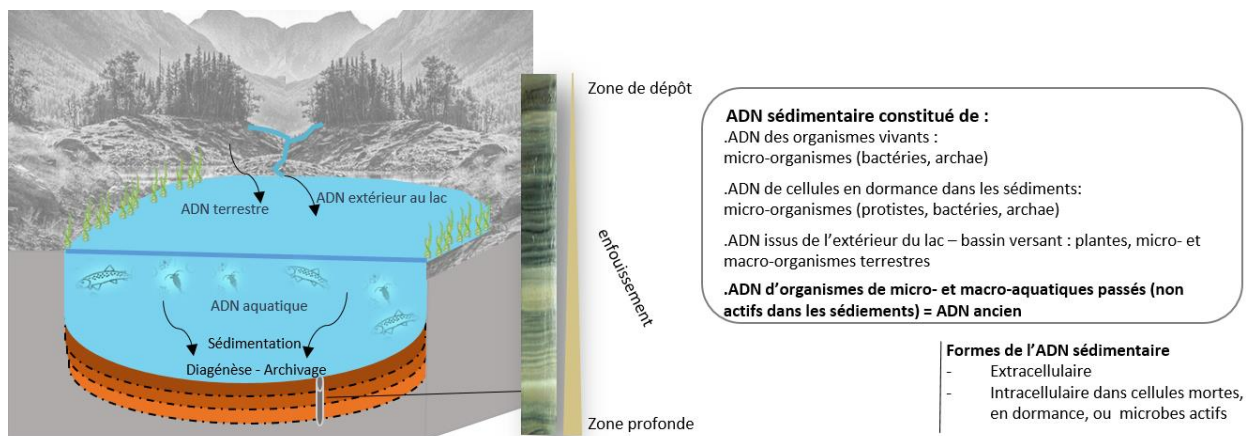


Figure.1 Schéma présentant le principe de l'archivage du signal ADN dans les sédiments lacustres (gauche) et différents types d'ADN retrouvés dans les sédiments (droite).

À notre connaissance, la première étude à signaler la présence d'ADN ancien dans les sédiments lacustres a été réalisée par Coolen and Overmann (1998), qui ont montré que, à l'échelle de l'holocène, les changements de stratification des eaux, de niveau d'anoxie et teneurs en soufre, peuvent être retracés en étudiant l'ADN des bactéries réductrices de soufre (ADN qui est préservé dans les sédiments). Depuis, le nombre de publications dans le domaine de la paléolimnologie moléculaire a largement augmenté, notamment depuis le milieu des années 2010 (Fig. 2).

Cette démarche fondamentalement interdisciplinaire, en éclairant la trajectoire historique des écosystèmes lacustres, permet d'une part d'alimenter la réflexion concernant les états dits 'de référence' et la capacité de résilience des écosystèmes face aux modifications environnementales, et d'autre part de contribuer à la connaissance des facteurs locaux ou globaux qui sous-tendent la dynamique de cette diversité biologique.

Au cours de l'anthropocène, les lacs et leur bassin versant ont été soumis à des pressions multiples, encore grandissantes aujourd'hui, liées au changement climatique, à la croissance démographique et l'urbanisation, et l'augmentation des apports en polluants, mais aussi aux modes de gestions des milieux et populations aquatiques (Jenny et al. 2020). Les effets de ces diverses pressions, qui se traduisent sur l'état de qualité des lacs, les cycles biogéochimiques et la dynamique et structure des communautés biologiques aquatiques, sont enregistrés dans les sédiments lacustres, et les diagnostics par l'ADN sédimentaire viennent accroître le potentiel informatif et transformatif des diagnostics paléolimnologiques (Capo et al. 2021).

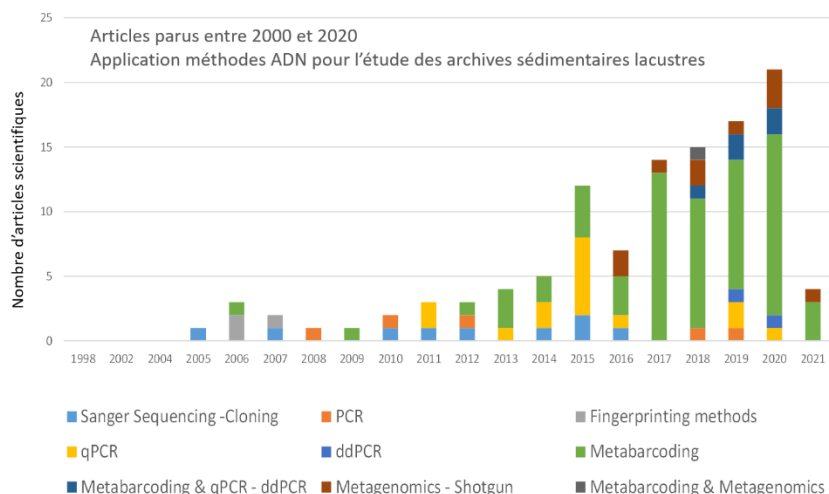


Figure. 2 Evolution du nombre de publications scientifiques entre 2000 et 2020 concernant l'application de méthodes moléculaires ADN pour révéler les changements de biodiversité et étés écologiques des lacs.

## I.1 L'ADN sédimentaire : intérêt, origine et composition

Les sédiments lacustres accumulent à la fois de la matière organique et inorganique autochtone (produite dans le lac) et allochtone (issu du bassin versant) (Fig.1).

Pour ce qui concerne les indicateurs biologiques, les études paléolimnologiques ont longtemps été dominées par l'analyse des restes morphologiques préservés dans les sédiments (par exemple, frustules des diatomées siliceuses, nannofossiles calcifiés, kystes de chrysophytes, restes de cladocères, mandibules de chironomes, pollen, macrofossiles végétaux), indicateurs qui ne donnent accès qu'à un nombre relativement limité de groupes aquatiques et terrestres (ceux produisant des formes bien archivées et facilement identifiables ; e.g. Battarbee et al. 2011; Bennion et al. 2015; Dearing et al. 2015; Birks and Berglund 2018). D'une manière générale ces méthodes limitent la capacité à prendre en compte une diversité large dans les reconstitutions de la diversité passée.

L'utilisation de l'ADN préservé dans les sédiments s'impose aujourd'hui comme une alternative assez puissante pour retracer les changements de la biodiversité au fil du temps, en considérant différents niveaux de diversité, allant des espèces, aux communautés, voire aux fonctions écosystémiques (Parducci et al. 2017; Domaizon et al. 2017).

Une partie de l'ADN retrouvé dans les sédiments reflètent des taxa morts/anciens, cet ADN (d'origine aquatique ou terrestre) a été transporté vers le fond du lac soit sous forme extracellulaire en étant adsorbé sur des particules organiques ou minérales, soit en étant encapsulé dans les cellules mortes mais intactes. Cette fraction d'ADN est l'ADN ancien au sens propre.

Toutefois l'ADN sédimentaire comporte également l'ADN de cellules en dormance dans les sédiments (ex. spores, kystes de micro-algues) qui elles aussi sont les témoins de populations et communautés passées, mais qui restent potentiellement revivifiables (Ellegaard et al. 2020).

Enfin, en particulier dans les sédiments superficiels, zone d'interface avec la colonne d'eau, l'ADN de nombreux micro-organismes actifs dans les sédiments (bactéries et archae en particulier) est également retrouvé puisqu'il s'agit du milieu de vie de ces micro-organismes (Fig.1).

## I.2 Quelques questions récurrentes et réponses

### *Q. L'ADN est-il modifié et combien de temps se préserve-t-il dans les sédiments lacustres ?*

*R.* La diagenèse précoce qui s'opère lors de l'enfouissement dans les sédiments peut affecter les molécules d'ADN. Cette altération peut être liée notamment à des microbes vivant dans les sédiments superficiels qui utilisent l'ADN extracellulaire comme source d'énergie (Dell'Anno et al. 2002). En revanche, l'ADN arrivant sous forme protégé (cellules de dormance, kystes ou autres cellules intactes) est en théorie mieux protégé de la diagenèse précoce (mais peut être plus difficile à extraire). De même, les lignines des plantes terrestres protègent mieux leurs cellules contre la dégradation microbienne que ce n'est le cas pour la plupart des producteurs primaires aquatiques (algues et macrophytes). Pourtant, les preuves sont nombreuses montrant que la diagenèse précoce n'a qu'un effet limité dans les sédiments lacustres notamment sur le signal ADN des communautés eucaryotes microbiennes (plancton ; Capo et al. 2017).

Sur le long terme les molécules d'ADN archivées subissent des dégradations : ruptures possibles des brins d'ADN, de lésions induisant des modifications du code génétique (déamination) et d'autres erreurs d'identification du signal moléculaire (Willerslev and Cooper 2005; Orlando and Cooper 2014). C'est pourquoi le ciblage d'ADN « du passé » doit être effectué en ciblant des régions (barcodes) courtes dans le cas d'approche de séquençage d'amplicons (metabarcoding notamment). Ainsi, autant que possible, lorsque les études concernent des ADN très anciens la qualité de l'ADN doit être vérifiée (par exemple Coolen et al. 2006) pour éviter les interprétations biaisées par le changement de la qualité de l'ADN au fil du temps (Clarke et al. 2019a, b; Giguët-Covex et al. 2019a).

La conservation de l'ADN sur de très grandes échelles de temps n'est pas bien comprise mais est supposée être assez dépendante des conditions environnementales lors de l'enfouissement (température et anoxie du fond du lac). Néanmoins, les molécules d'ADN sédimentaire peuvent être préservées sur des échelles de temps longues, par exemple, des sédiments âgés de plus de 270 000 ans du lac de Van, en Turquie (Randlett et al. 2014).

*Q. Quelles sont les facteurs qui influencent la préservation de l'ADN dans les sédiments lacustres ?*

R. Les conditions environnementales, physico-chimiques à l'interface eau-sédiment peuvent également influencer la persistance de l'ADN (issu d'organismes aquatiques) et son efficacité d'enfouissement dans les sédiments. Ces conditions sont notamment la température, le pH, les conditions d'anoxie et sulfuriques dans les eaux de fond, les activités microbiennes (Coolen et al., 2004a, b; Coolen and Gibson 2009). L'adsorption de l'ADN sur les particules minérales est également un facteur important contrôlant la persistance des molécules d'ADN dans les archives sédimentaires (Kanbar et al. 2020). La dissolution de l'ADN adsorbé peut se produire en fonction de la proportion de minéraux argileux, du pH de l'eau interstitielle ou de la concentration en cations, etc (Torti et al. 2015). Les changements des conditions environnementales à l'interface eau-sédiment sont donc probablement cruciaux pour la préservation des molécules d'ADN. Dans une étude récente sur les sédiments lacustres modernes, Jia et al. (2021) ont révélé qu'un pH de 7 à 9 et certains niveaux de conductivité permettaient une bonne conservation de l'ADN. Néanmoins, l'ADN-sédimentaire (de communautés passées) a été analysé avec succès dans des écosystèmes aquatiques qui ne satisfaisaient pas aux conditions de conservation idéales rapportées par Jia et al, et notamment dans les sédiments de lacs tropicaux chauds (par exemple, Epp et al. 2010; Stoof-Leichsenring et al. 2012; Vuillemin et al. 2017) et les sédiments profonds oxygénés (Coolen et al. 2013; Lejzerowicz et al. 2013).

*Q. Y a-t-il des risques que l'ADN migre dans le sédiment ?*

R. Bien que la migration verticale (lixiviation) de l'ADN ait été observé dans les sédiments des grottes ou des sols (sédiments non compactés), cette migration de l'ADN dans les sédiments lacustres est considérée comme hautement improbable et l'ADN sédimentaire est censé permettre une reconstruction temporelle précise (Anderson-Carpenter et al. 2011; Sjögren et al. 2017; Ficetola et al. 2018). Comme l'ont rapporté Anderson-Carpenter et al (2011), la percolation périodique vers le bas de l'eau peut déplacer l'ADN dans les sédiments poreux et granulaires des grottes et des profils de sol ; les sédiments lacustres, en revanche, sont saturés en permanence et la percolation gravitationnelle de l'eau ne se produit pas. Une fois les sédiments compactés, l'advection verticale de l'eau interstitielle est minimale et les métaux multivalents et les composés organiques (pigments, molécules organiques de plus de 15 atomes de carbone) sont immobilisés dans la matrice sédimentaire. Les grosses molécules organiques telles que l'ADN sont susceptibles d'adhérer aux sédiments en phase solide (particules, matière organique particulaire). Les polluants organiques tels que les molécules de HAP et de BPC ont montré des schémas pertinents dans les sédiments lacustres, avec une augmentation de ces molécules à des horizons temporels localement appropriés, sans aucune preuve de lessivage vertical (Meyers 2003; Smol 2008). La preuve la plus convaincante contre la lixiviation de l'ADN dans les sédiments provient des nombreux enregistrements qui montrent une congruence temporelle entre l'ADN et les restes morphologiques (sub-fossiles) ou géochimiques (Coolen et al. 2006; Stoof-Leichsenring et al. 2012; Epp et al. 2015; Dulias et al. 2017; Tse et al. 2018) et entre l'ADN et les données de surveillance (étude à long terme de la colonne d'eau) (Savichtcheva et al. 2015; Monchamp et al. 2018).

*Q. Comment distinguer les formes d'ADN ancien de celles des cellules microbiennes actives ?*

R. La question se pose en particulier pour le pool d'ADN issu des micro-organismes puisque certains groupes, bactériens et archéens en particulier, vivent dans les sédiments. Pour les eucaryotes bien que l'on ne puisse complètement exclure la présence de cellules eucaryotes actives dans les sédiments, la question est moins critique. Les cellules eucaryotes actives semblent principalement le fait de (i) cellules de dormance revivifiables (Ellegaard et al. 2020), (ii) de taxons vivant à la surface des sédiments (protistes benthiques en zones oxygénées, champignons), (iii) de rare cas d'eucaryotes extrêmophiles (protistes) vivant dans des sédiments profonds mais représentant une fraction négligeable de l'immense diversité de la communauté eucaryote totale retrouvée via l'ADN sédimentaire (Capo et al. 2020). Certains micro-organismes enfouis peuvent rester viables pendant de longues périodes après l'enfouissement dans les sédiments (jusqu'à des milliers d'années ;Jørgensen 2011). Pour être considérée comme vivante, une cellule doit être intacte, maintenir un potentiel électrochimique à travers la membrane cellulaire et être capable de croissance et de reproduction. Plusieurs approches sont utilisables pour tester la viabilité et/ou l'activité microbienne (Emerson et al. 2017). Parmi les études paleolimnologiques on recense notamment (i) l'extraction indépendante de l'ADN intracellulaire ou



extracellulaire qui peut informer sur la diversité et le potentiel métabolique des cellules bactériennes vivantes et mortes (Vuillemin et al. 2017), (ii) l'analyse de l'ARN qui permet d'identifier la fraction active du microbiome ; l'ARN se dégrade généralement rapidement dans l'environnement, il est donc supposé refléter l'activité des micro-organismes vivant dans les sédiment (Vuillemin et al. 2020; Pearman et al. 2021). Cependant, des études ont montré que l'ARN peut être récupéré à partir de cellules anciennes et qu'il a le potentiel de rester actif pendant plusieurs décennies dans certains cas (revu par Smith and Gilbert (2018), (iii) une autre approche pour distinguer les organismes vivants des organismes morts dans les sédiments est la PCR de viabilité via le monoazide de propidium, un colorant intercalant des acides nucléiques se liant à l'ADN extracellulaire et à l'ADN à l'intérieur des cellules endommagées, le rendant indisponible pour la PCR et le séquençage (Heise et al. 2016; Emerson et al. 2017). De plus, certains protocoles d'extraction d'ADN sont mieux adaptés pour la récupération de fragments courts , qui sont généralement caractéristiques de l'ADN ancien, (iv) enfin des stratégies bioinformatiques peuvent être appliquées lors du traitement des données post-séquençage pour récupérer des séquences courtes typiques de l'ADN ancien (Armbrecht et al. 2020). Pour les données de métagénomique en particulier, des méthodes bioinformatiques permettent d'évaluer les modèles de dommages à l'ADN (signe d'authenticité de l'ADN ancien ; e.g. Pedersen et al. 2016).

### I.3 Analyse de l'ADN Sédimentaire : Précautions méthodologiques pour les paléo-reconstructions

Le succès des reconstitutions paléolimnologiques basées sur l'analyse de l'ADN sédimentaire est fonction (i) de la capacité à extraire efficacement l'ADN plus ou moins ancien à partir des sédiments (ii) des conditions d'enfouissement et de taphonomie qui impactent de la préservation des molécules d'ADN dans les sédiments (Alsos et al. 2018; Zinger et al. 2019). Le niveau de conservation de l'ADN dans les sédiments (d'un lac à l'autre ou lors du vieillissement dans les sédiments) est un point sensible à prendre en compte pour les paléo-réconstructions, surtout lorsque les études concernent de pas de temps long (> à 1000 ans)

**Les mécanismes de protection de l'ADN qui s'opèrent via l'adsorption de l'ADN sur des particules minérales et organiques, ainsi que l'absence d'oxygène et de rayonnement UV, font des sédiments aquatiques des environnements appropriés pour la préservation de l'ADN** (Parducci et al. 2018). Cependant, plusieurs processus peuvent altérer les séquences d'ADN dans les sédiments d'eau douce (Torti et al. 2015; Domaizon et al. 2017; Giguet-Covex et al. 2019b). Il est donc important ici de déterminer si les différences observées entre les strates sédimentaires récentes et plus anciennes peuvent induites par des processus diagénétiques responsables de modifications de l'ADN (artefacts). La dégradation des molécules d'ADN au fil du temps dans les sédiments et la présence de microbes actifs qui compromettent ou masquent le signal ADN ancien doivent également être prises en compte lors de l'analyse de sedaDNA.

Diverses précautions méthodologiques sont appliquées lors de l'analyse de l'ADN sédimentaire, les principales précautions sont recensées dans l'encart 2.

L'approche méthodologique comme la sélection du site de carottage ou la sélection des primers dépend fortement de l'hypothèse et des objectifs de l'étude. Toutefois, diverses précautions lors du prélèvement et des manipulations en laboratoire sont nécessaires et peuvent être harmoniser d'une étude à l'autre afin obtenir des résultats solides et transférables (Boere et al. 2011; Rizzi et al. 2012; Torti et al. 2015) et les protocoles de laboratoire stricts doivent être appliqués pour garantir la validité des données moléculaires.

## Encart 2. Précautions mises en œuvre pour l'analyse de l'ADN sédimentaire :

Lors de la manipulation des carottes et des échantillons de sédiments dédiés à l'analyse ADN, les manipulateurs sont équipés pour éviter les contaminations par l'expérimentateur (gants, charlotte, blouse, masque chirurgical).

Pour le carottage par gravité, les carottes doivent être prélevées à l'aide de tube en plexiglass stérile. Le carottage avec un freeze corer peut être nécessaire pour certains types d'études (ex. études ciblant l'ARN).

Des protocoles de laboratoire stricts sont appliqués pour garantir la validité des données moléculaires :

- du matériel stérile est utilisé tout au long des procédures de laboratoire, les strates de sédiment sont prélevées à l'aide de plaques métalliques stérilisées.
- des stations de travail distinctes sont organisées pour le sous-échantillonnage du sédiment, les extractions d'ADN et la préparation des amplifications PCR. En particulier pour éviter la contamination par l'ADN moderne (qui biaiserait les résultats étant plus facilement amplifiable et séquencé que l'ADN ancien), l'extraction de l'ADN des sédiments est réalisée dans des salles spécifiques dédiées à l'ADN rare, et la PCR est préparée sous des postes de travail dédiés. Ces laboratoires sont physiquement séparés des autres laboratoires de biologie moléculaire traditionnels.
- des contrôles négatifs (échantillons d'eau stérile) sont inclus à 3 étapes de la procédure : lors du sous-échantillonnage, de l'extraction et de la préparation des PCR.
- des codes-barres courts adaptés aux travaux sur l'ADN sédimentaire potentiellement ancien sont sélectionnés. Le choix de la région barcode s'appuie sur les vérifications de la couverture des amorces pour la diversité des groupes biologiques d'intérêt et de la qualité de l'assignation taxonomique.
- au moins deux répliques d'extraction sont réalisés pour chaque strate sédimentaire et la similitude des résultats obtenus après séquençage de ces deux répliques est vérifiée avant l'analyse approfondie des résultats.
- des analyses de PCR quantitative sont potentiellement réalisées en complément des résultats de séquençage en particulier pour confirmer les tendances quantitatives observées sur certains groupes via les données de metabarcoding.

Plusieurs documents de synthèse (en version anglaise) ont précédemment formalisé les recommandations pour appliquer les analyses d'ADN sédimentaire afin de reconstituer la diversité passée (Tableau 1). Parmi les plus récents la synthèse de Capo et al (2021) reprend l'essentiel des informations utiles en particulier pour le travail sur l'ADN sédimentaire en lacs.

*Tableau 1 : synthèse, revues concernant l'application de outils ADN en paléolimnologie, paleo-océanographie*

Capo et al. 2022	Environmental paleomicrobiology: using DNA preserved in aquatic sediments to its full potential.
Capo et al. 2021	Lake Sedimentary DNA Research on Past Terrestrial and Aquatic Biodiversity: Overview and Recommendations.
Chen and Ficetola 2020	Numerical methods for sedimentary-ancient-DNA-based study on past biodiversity and ecosystem functioning
Armbrecht et al. 2019	Ancient DNA from marine sediments: Precautions and considerations for seafloor coring, sample handling and data generation
Epp 2019	A global perspective for biodiversity history with ancient environmental DNA
Epp et al. 2019	Sampling and Extraction of Ancient DNA from Sediments
Nichols et al. 2019	Targeted Amplification and Sequencing of Ancient Environmental and Sedimentary DNA
Parducci et al. 2018	Reconstructing Past Vegetation Communities Using Ancient DNA from Lake Sediments
Domaizon et al. 2017	DNA-based methods in paleolimnology: new opportunities for investigating long-term dynamics of lacustrine biodiversity
Parducci et al. 2017	Ancient plant DNA in lake sediments
Parducci and Bennett 2017	The real significance of ancient DNA
Birks and Birks 2016	How have studies of ancient DNA from sediments contributed to the reconstruction of Quaternary floras?
Pedersen et al. 2015a	Ancient and modern environmental DNA
Torti et al. 2015	Origin, dynamics, and implications of extracellular DNA pools in marine sediments
Rawlence et al. 2014	Using palaeoenvironmental DNA to reconstruct past environments: progress and prospects

**Confrontation à d'autres indicateurs :** dans certains cas, les résultats fournis par l'ADN peuvent être confrontés à d'autres marqueurs sédimentaires comme les macrofossiles, le pollen, les

biomarqueurs lipidiques ou autres données historiques, afin de valider les reconstitutions par des approches multi-indicateurs. Ceci a été le cas par exemple pour la reconstitution des dynamiques de cyanobactéries (Monchamp et al 2016) sur les lacs péri-alpins. Toutefois la couverture taxonomique offerte par l'ADN peut s'étendre à tous les groupes d'organismes, ces signaux ADN ne peuvent donc pas être systématiquement « validés » par d'autres indicateurs traditionnels car l'équivalent n'existe pas dans les informations acquises par les méthodes traditionnelles.

## I.4 . Quelles méthodes moléculaires pour l'analyse de l'ADN sédimentaire

Dans le cas de reconstitution de la biodiversité passée à partir de l'ADN sédimentaire, les principales méthodes moléculaires utilisées sont : (i) des méthodes visant à détecter ou quantifier la présence d'organismes ciblés par PCR, qPCR et ddPCR (ces deux dernières pour une quantification de l'ADN de la cible biologique), (ii) des méthodes basées sur le métabarcoding de l'ADN qui, après amplification par PCR d'une région barcode choisie, utilise le séquençage à haut débit pour produire des inventaires taxonomiques par comparaison des séquences ADN à des bases de références moléculaires, (iii) des approches métagénomiques basées sur le séquençage aléatoire ou « shotgun » de tout l'ADN extrait (Fig.3). Récemment, on recense également l'utilisation de méthodes d'enrichissement ciblé basé sur la capture par hybridation afin de capter des régions ADN cible (Armbrecht et al 2021), méthode prometteuse pour capter des signaux rares.

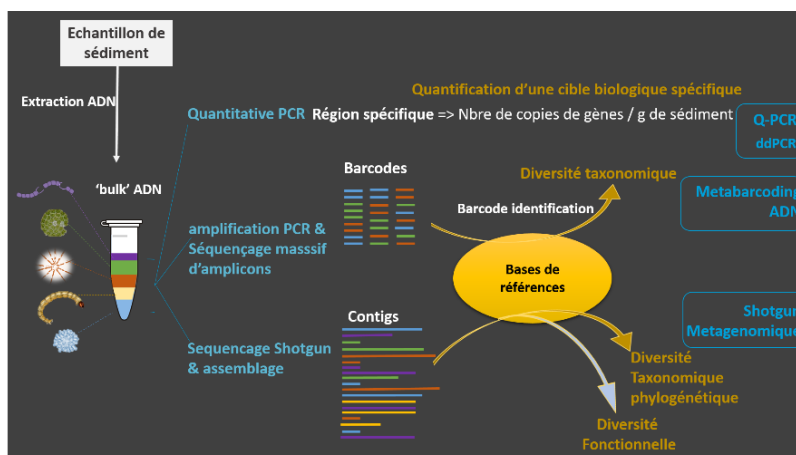


Figure. 3 Schéma récapitulant les principales méthodes utilisées aujourd'hui pour l'analyse de l'ADN sédimentaire à des fins de reconstitutions paléocéologiques.

## I.5 Quelques faits scientifiques marquants

Grace à divers optimisation méthodologiques et calibration pour l'ADN sédimentaire de nombreuses études ont aujourd'hui montré l'énorme potentiel de cette approche pour reconstruire les assemblages biologiques passés, à un niveau de détail sans précédent (Anderson-Carpenter et al. 2011; Thomsen et al. 2012; Pedersen et al. 2015; Parducci et al. 2017; Domaizon et al. 2017; Armbrecht et al. 2019; Edwards 2020; Capo et al. 2021). Les nouvelles connaissances produites concernant les communautés lacustres sont notamment (i) les réarrangements de composition au sein des assemblages microbiens dans les lacs soumis à divers niveaux d'impacts humains, (ii) la récente homogénéisation régionale de la diversité microbienne à travers les lacs, et (iii) les taxons microbiens favorisés par les modifications récentes des conditions environnementales dues aux pressions anthropiques (cyanobactéries, plancton eucaryote). En outre, l'apparition de proliférations d'algues au cours de l'Holocène et le suivi à long terme des interactions microbiennes, telles que les interactions parasitaires ou mutualistes ont également été étudié à l'aide d'approches basées sur le sedaDNA.

Toutefois les études recensées couvrent un panel beaucoup plus large comme illustré dans le Tableau 1 extrait et modifié de Capo et al. (2021). Voir [tableau annexe 1](#)

## II. Reconstitution de la diversité aquatique : les principales avancées pour l'étude de lacs français.

Les premières analyses en ADN sédimentaire appliquées sur les grands lacs péri-alpins français ont mis en évidence la réponse forte des pico-cyanobactérie *Synechococcus* face au changement environnementaux (Domaizon et al. 2013). Plus précisément, l'étude a démontré l'importante contribution de l'eutrophisation (apports en phosphates) et des changements de température à la dynamique et structure de ces communautés algales. Du plus, des analyses qPCR sur l'ADN sédimentaire ont révélé des modifications majeures des communautés de cyanobactéries en réponse à l'eutrophisation dans le lac du Bourget (Savichtcheva et al. 2015). Ces données ont permis d'approfondir la compréhension de la dynamique des communautés de cyanobactérie dans ces lacs, notamment en mettant en évidence l'effet synergique du climat et des apports en nutriment sur la dynamique de *Planktothrix rubescens*, une espèce de cyanobactérie toxique adaptée aux conditions mésotrophes. Ces études ont ainsi souligné le fort potentiel offert par les archives sédimentaires qui permettent de mieux anticiper comment les conditions environnementales futures pourraient influencer la réponse d'algues toxiques.

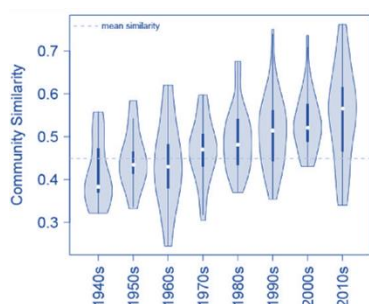


Figure 4. extraite de Monchamp et al 2017 : Illustration de l'homogénéisation de la composition des assemblages cyanobactériens au cours du siècle dernier.

### Encart 3. Apports des études ADN sédimentaires pour comprendre le rôle des teneurs en phosphore et des conditions de température sur les blooms à cyanobactéries

En s'appuyant sur les analyses de l'ADN cyanobactérien les paléoreconstitutions menées à l'échelle du siècle dernier ont permis de :

- (1) révéler la dynamique d'une cyanobactérie particulière *Planktothrix rubescens* impliquée dans des proliférations sur les grands lacs en réoligotrophisation, et discriminer les impacts relatifs des nutriments et de la température sur cette cyanobactérie toxique (Savitcheva et al 2015)
- (2) mettre en exergue la réponse de l'assemblage cyanobactérien aux changements d'état trophique (teneurs en P en particulier) avec des retours à des états de pré-eutrophisation après restauration du milieu, et ceci notamment pour des taxa peu étudiés jusque-là telles que les picocyanobactéries (Domaizon et al 2013).
- (3) à l'échelle d'une dizaine de lacs péri-alpins, illustrer la tendance à l'homogénéisation entre les lacs (perte de beta diversité) de la composition et diversité phylogénétique des cyanobactéries dans les périodes récentes (Monchamp et al. 2017).

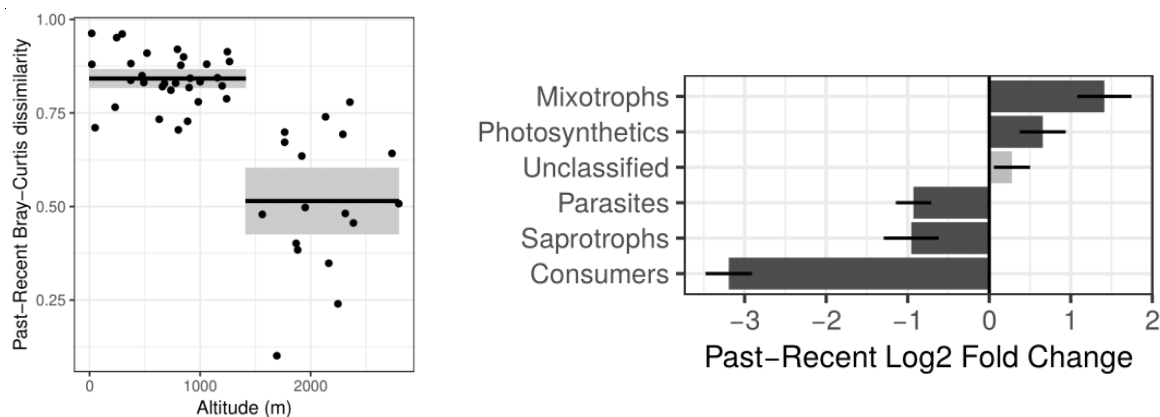
Des reconstructions basées sur l'analyse d'ADN des communautés méthanotrophes (couplé à d'autres indicateurs, comme les macro-restes de chironomes) ont permis de montrer que les changements quantitatifs de bactéries oxydant le méthane étaient utilisables pour révéler l'apparition de période anoxique et modification des conditions de dégradation en zone benthique profonde dans trois lacs jurassiens français (Belle et al. 2016; Belle and Parent 2019). Ces travaux ont souligné le rôle des apports en nutriments et du climat en tant que régulateurs importants de la dynamique d'oxydation du méthane dans les lacs.

L'approche ADN sédimentaire a ensuite été adaptée pour obtenir une vision plus globale de la biodiversité des lacs français avec la reconstruction des dynamiques long-terme des communautés micro-eucaryotes.

Ces études ont démontré que l'eutrophisation des lacs péri-alpins français entre les années 1940 et 1980 a fortement contribué au réarrangement de communautés micro-eucaryotes (Capo et al. 2016, 2017). Par ailleurs, le climat est devenu un facteur de poids, empêchant le retour des communautés biologiques à un état de référence (pré-eutrophisation) bien que des plans de gestion ont œuvrés de manière efficace pour aboutir à la ré-oligotrophisation de ces lacs au cours des dernières décennies.

Plus récemment, dans le cadre du pôle R&D ECLA, l'approche ADN sédimentaire a été déployée sur un quarantaine de lacs français alpins et péri-alpins (Keck et al. 2020; Barouillet et al. 2021). Les résultats de ces études ont permis d'illustrer la capacité des analyses ADN sédimentaire à diagnostiquer l'amplitude des changements de biodiversité s'étant produit au cours des deux siècles derniers sur un grand nombre de lacs.

Les données de reconstitution de diversité globale et ciblé sur les ciliés mettent en évidence des changements de diversité, avec une homogénéisation des communautés, et des réarrangements de réseaux trophiques en réponse à l'eutrophisation et l'anoxie deux phénomènes majeurs qui se sont amplifiés au cours de l'anthropocène. De plus, l'étude ciblée sur les ciliés a permis d'apporter des informations inédites sur l'état écologique fonctionnel des lacs sous une approche innovantes basés sur les traits fonctionnels (Barouillet et al 2021).



**Fig. 5a 5b :** **5a** (gauche) : Relation entre altitude des lacs et valeur de dissimilarité des strates “récente” vs “passé” pour chaque lac. La ligne noire représente la valeur moyenne pour la “fitted regression tree model” et la zone grisée représente l’intervalle de confiance de 95% autour de la moyenne. **5b** (droite) : Amplitude du changement pour chaque groupe trophique entre strate “passé” et “récente” (“log2 fold change” selon la méthode DESeq2 de Love et al. 2014). Les barres noires représentent les groupes pour lesquels les différence d’abondance relative entre “recent” et “passé” sont significatives (p-value < 0.05).

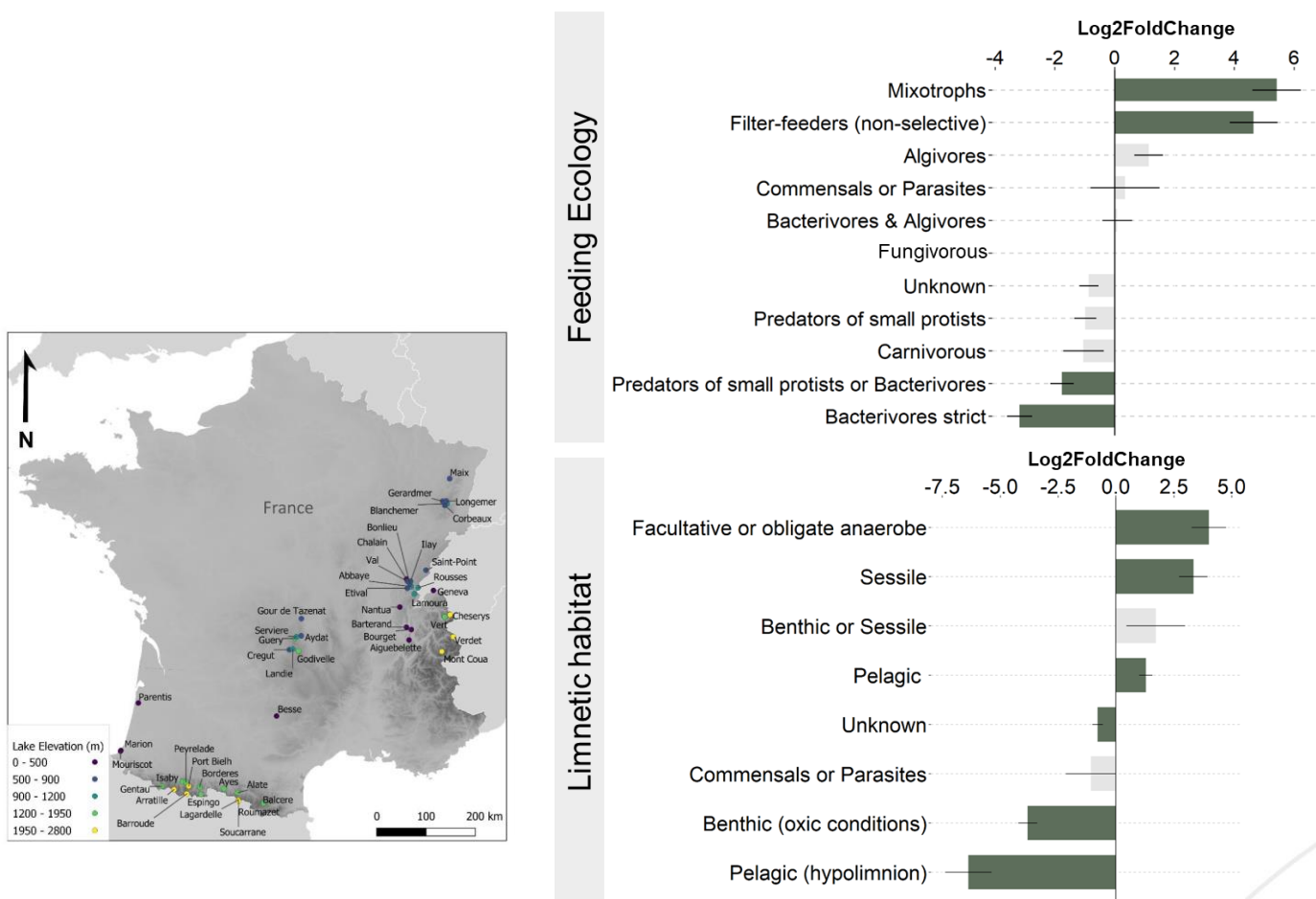
#### Encart 4.

L'étude (Keck et al 2020), publiée dans le journal Nature Communication, s'appuie sur l'analyse de l'ADN préservé dans les archives sédimentaires pour reconstituer la dynamique de la diversité lacustre (du plancton notamment). Les principaux résultats sont les suivants :

- Déploiement réussi de l'outil ADN (métabarcoding) sur 48 lacs pour estimer l'amplitude des changements de diversité entre la fin du 19ème (considérée comme période de référence) et la période récente
- Les résultats confirment la pertinence de ces outils de diagnose sur un nombre de lacs significatif (lacs de France métropole, mais présentant des typologies variées).
- L'analyse de l'ADN (48 lacs) montre des changements forts dans la composition de la biodiversité (eucaryote) des lacs de plaine en comparaison avec les lacs d'altitude (au-dessus de 1400 m), généralement moins affectés.

- La diversité des micro-algues, des parasites, des saprotrophes et des micro-prédateurs a subi des réarrangements marqués au cours du siècle dernier.
- Ces changements s'accompagnent d'une homogénéisation de la diversité entre les lacs : les résultats suggèrent une standardisation de la biodiversité microbienne dans les lacs dans la période récente.
- Les données acquises suggèrent une augmentation de la production primaire avec une augmentation des autotrophes obligatoires et mixotrophes qui semblent être favorisés par le réchauffement climatique récent et les apports d'éléments nutritifs dus aux activités humaines autour des lacs.

**Ces résultats apportent un éclairage inédit sur les changements de diversité microbienne observés sur des temps longs, alors même que les micro-organismes sont généralement absents des grands débats sur la biodiversité.**



**Fig. 6a 6b :** **6a** (gauche) : Localisation des 48 lacs étudiés, les couleurs correspondent à l'altitude des lacs (voir échelle sur la figure). **6b** (droite) : Amplitude du changement pour chaque groupe fonctionnel des ciliés entre strate "passé" et "récente" ("log2 fold change" selon la méthode DESeq2 de Love et al. 2014). Les barres vertes foncées représentent les groupes pour lesquels les différences d'abondance relative entre "récent" et "passé" sont significatives (p-value < 0.05).

#### Encart 5.

Les ciliés sont des organismes unicellulaires qui occupent des niches écologiques diverses et jouent des rôles importants dans les réseaux trophiques planctoniques et benthiques (maillon vers les métazooplancton). En paléolimnologie, l'absence de restes identifiables morphologiquement provenant a empêché d'inclure ce maillon trophique dans les reconstructions temporelles de l'état

écologique des systèmes lacustres. L'étude (Barouillet et al 2021), en ciblant les ciliés, a permis :

- de révéler montrent une baisse globale de la diversité  $\beta$  dans les périodes récentes, en particulier dans les lacs de plaine qui sont plus fortement exposés à la pression humaine locale.
- de démontrer une restructuration importante du réseau trophique via l'analyse par groupes fonctionnels, ainsi que des changements qui sont cohérents avec l'augmentation généralisée de l'anoxie en eau profonde, et la stabilité thermique.
- de démontrer le potentiel offert par l'ADN-sédimentaire pour intégrer les communautés ciliés dans les approches paléolimnologiques en tant qu'indicateurs des zones pélagiques aux zones benthiques profondes.
- De fournir des informations supplémentaires sur le fonctionnement de l'écosystème via une approche fonctionnelle basée sur les traits.

**Ces résultats offrent une vision plus holistique des changements à long terme des écosystèmes aquatiques en montrant comment l'intégration de communautés microbiennes hétérotrophes peut permettre d'accéder à des indicateurs de fonctionnement.**

En parallèle des travaux menés sur les reconstitutions de la diversité aquatique, l'ADN sédimentaire a été utilisé pour reconstruire l'historique du bassin versant de lacs alpins français au cours de l'Holocène. Ces études ont démontré que les lacs de hautes altitudes ont été exposés aux premières activités humaines à partir du Néolithique (début de l'Holocène), engendrant les premiers épisodes d'érosions suite à la déforestation et à l'exploitation du bassin versant pour l'activité agricole (Giguet-Covex et al. 2014). Des analyses d'ADN de plantes terrestres issues des sédiments lacustres ont ensuite démontré que les activités agropastorales au cours de l'Holocène ont fortement perturbé l'étagement naturel de la végétation en remplaçant les forêts montagnardes par des prairies d'herbes hautes dans les bassins versants de hautes altitudes (Pansu et al. 2015). Ces résultats ont ainsi apporté des informations d'intérêt pour les études anthropologiques et archéologiques. Dans un contexte écologique et de gestion des plans d'eaux, ces analyses ont aussi permis d'élucider le poids relatif du climat et des activités agropastorales sur l'évolution de la végétation du bassin versant de ces lacs isolés sur des échelles de temps longues, apportant ainsi une meilleure compréhension des interactions hommes, climats et environnement au cours de l'anthropocène.

### **III. Promouvoir l'intégration de l'analyse ADN sédimentaire dans les diagnostics écologiques et surveillances des lacs**

L'analyse de l'ADN archivé dans les sédiments lacustres représente une approche pertinente et potentiellement puissante pour compléter les indicateurs traditionnels tels que ceux collectés via la Directive Cadre sur l'Eau (DCE) par exemple. En effet, cette approche innovante permet de produire une caractérisation beaucoup plus exhaustive de la biodiversité lacustre et d'étudier les règles d'assemblages d'espèces, révélant notamment des informations sur des indicateurs biologiques autrefois inaccessibles par les approches paléolimnologiques traditionnelles ou les suivis limnologiques. Cette approche permet aussi de mieux caractériser l'ordre chronologique et la cause des 'changements', les facteurs explicatifs des modifications temporelles de cette biodiversité et de mieux appréhender le fonctionnement écologique des lacs sur le long terme. De manière globale, cette approche peut répondre à des besoins grandissant d'amélioration des diagnostics écologiques.

### *-Mieux définir les états de pré-perturbation – états de référence - des lacs*

Les changements d'état écologique des lacs sont évalués par rapport à des conditions dites de référence. Cependant, ces références sont souvent difficiles à définir en l'absence de données long-terme nécessaires pour évaluer l'amplitude des changements.

Dans le cadre de la DCE, afin de pallier au manque de données temporelles sur le long-terme, les états de référence sont basés sur l'état écologique actuel d'écosystèmes types considérés comme des sites de référence non perturbés (soumis à une faible exposition aux perturbations anthropiques). Bien que la substitution 'space for time' soit reconnue comme pertinente, dans de nombreux cas elle présente des limites.

L'histoire de chaque écosystème est importante à prendre en compte car elle façonne en partie la manière dont cet écosystème répond aux pressions actuelles/nouvelles (exemple : différences de réponse au réchauffement récent pour des systèmes ayant été affecté précédemment par des niveaux d'eutrophisation différents ; Perga et al 2015).

Un avantage évident de la paléolimnologie pour appuyer la gestion des lacs est la capacité de caractériser la variabilité naturelle du milieu étudié, et les conditions de pré-perturbation propre à chaque écosystème, qui permettent de lever des incertitudes lors de l'établissement des objectifs de restauration ainsi plus spécifiques aux écosystèmes étudiés (Jacques et al. 2020 ; Paterson et al 2020).

### *-Aider au développement d'indicateurs biologiques & obtenir une vision plus globale des modifications écologiques et potentiel points de basculements*

Dans le cadre de la DCE, les indicateurs biologiques des lacs sont efficaces pour révéler l'état trophique et la dégradation des habitats ; il manque néanmoins aujourd'hui une dimension d'évaluation de la biodiversité beaucoup globale qui permettrait, d'une part, d'intégrer une caractérisation plus complète des communautés biologiques présentes dans les lacs et, d'autre part, de faciliter la prise en compte de taxa qui offrent un potentiel informatif complémentaire aux bioindicateurs standards, et permettent notamment de révéler les effets de forçages tels que le changement climatique, ou les impacts d'ordre fonctionnel (ex. Barouillet et 2021).

Dans un contexte actuel où l'érosion de la biodiversité touche particulièrement les milieux aquatiques (Albert et al 2021 ; Dudgeon 2019), les besoins d'évolution des diagnostics écologiques, notamment en intégrant les approches à haut débit tel que l'ADNe, sont grandissants. L'analyse de l'ADN sédimentaire pour accéder à des données plus globales (ex. biodiversité, fonctions écologiques, réseaux trophiques) à partir des archives lacustres se place dans ces évolutions attendues, offrant l'accès des informations complémentaires des suivis traditionnels, et pouvant appuyer le développement de nouveaux indicateurs biologiques (multimétriques). Le déploiement de ces outils de diagnose basés sur l'ADN sédimentaire, appliqué à un grand nombre de lacs, permet d'obtenir une vision globale assez inédite sur l'évolution et la distribution de la biodiversité lacustre, en alliant des échelles spatiales et temporelles larges, apportant aussi des informations sur les effets de multiples forçages (revue Capo et al 2020 ; Keck et al 2020).

Via ces diagnostics, des données sur des tendances temporelles à haute résolution (ex. résolution annuelle sur sédiments varvés; Capo et al 2021b) sont possibles, permettant d'identifier les potentiels points de basculements écologiques de manière précise dans le temps, de mieux évaluer les états de transitions et la résilience des lacs face aux perturbations locales et globales.

### *-Alimenter les modèles*



Les données paléolimnologiques peuvent devenir des atouts majeurs pour les démarches de modélisation, et l'intégration des métriques de biodiversité dans les modèles de fonctionnement des écosystèmes lacustres (ex. GLM-AED). Ces données sur le long terme donnent l'opportunité unique de calibrer/valider certains outils de modélisation, une étape indispensable pour augmenter la fiabilité des estimations des impacts des changements globaux. L'un des challenges pour le futur proche est d'articuler efficacement ce couplage entre les données paléolimnologiques, les observations limnologiques et les modèles de fonctionnement des lacs pour accroître la robustesse des prédictions sur l'état des lacs dans un contexte environnemental changeant.

## IV. Conclusion

L'application de l'ADN sédimentaire est une approche pluridisciplinaire en elle-même, elle fait appel à de nombreuses compétences passant de la connaissance en biologie moléculaire et bio-informatiques à la datation et compréhension de la composition physico-chimique des carottes sédimentaires. De plus, si ce type d'approche permet d'accéder à des données inédites, sur la biodiversité globale par exemple, elle ne se substitue pas aux études traditionnelles de paléolimnologie et aux suivis de routine limnologiques mais doit être plutôt appréhendée comme un outil complémentaire.

Bien que le travail avec l'ADN ancien nécessite des moyens et compétences spécifiques, il fournit une approche qui a déjà montré son succès. Son intégration à l'évaluation environnementale à l'aide des technologies de séquençage à haut débit et de métabarcoding est donc prometteuse, offrant une vue plus holistique de la réponse des écosystèmes aquatiques aux changements environnementaux. Ceci est d'autant plus pertinent que des besoins forts existent pour appréhender, comprendre et modéliser la dynamique de la biodiversité et des réseaux trophiques à l'échelle de l'écosystème, et que tous les acteurs clés de ces réseaux trophiques sont potentiellement accessibles via l'ADN sédimentaire.

## V. Annexes

### ANNEXE 1 TABLEAU

Objectifs: Ecologie=E ; Taphonomie=T ; Methodologie=M ; Revue-opinion=R-O ; Géologie = G  
Aquatique=A ; Terestre=T

AUTEURS - ANNEES	OBJECTIFS	ECOSYSTEMES	ORGANISMES CIBLES	PERIODE DE TEMPS	FORCAGES ETUDIÉS	REGIONS CLIMATIQUES	TECHNIQUES MOLECULAIRES
Keck et al 2020	E	A	micro-eucaryotes	200	eutrophisation & CC	48 lacs France	métabarcoding
Stoof-Leichsenring et al. 2020	E	A	diatomés	surface sed. & 7000			
Tabares et al. 2020	E	T	plantes	170			
Voldstad et al. 2020	E	T	plantes			arctique	
Belle & Parent 2019	E	A	bactéries	1 200	salinité, M-O, climat	tempéré	qPCR

AUTEURS - ANNEES	OBJECTIFS	ECOSYSTEMES	ORGANISMES CIBLES	PERIODE DE TEMPS	FORCAGES ETUDIES	REGIONS CLIMATIQUES	TECHNIQUES MOLECULAIRES
Capo et al. 2019	E	A	protistes, cyanobactéries	40	climat, OM terrestre	boreal	métabarcoding
Clarke et al. 2019	E	A	plantes	24 000		arctic-alpin	métabarcoding
Crump et al. 2019	E	T	plantes	7 400	climat	arctic	métabarcoding
Giguet-Covex et al. 2019	T	T	plantes, animaux	6 500	géologie BV	tempéré	métabarcoding
Legrand et al. 2019	E	A	cyanobactéries	6 700		tempéré	PCR nichée
Li et al. 2019	E	A	bactéries, eucaryotes	150	pressions anthropiques		métabarcoding
Monchamp et al. 2019	E	A	cyanobactéries	100	distance géographique nutriments & température	tempéré	métabarcoding
Monchamp et al. 2019	E	A	cyanobactéries	100	distance géographique	tempéré	métabarcoding
Nelson-Chorney et al. 2019	E	A	poissons	100			
Parducci et al. 2019	M	T	plantes	14 100		boreal	métagénomique
Pilon et al. 2019	E	A	cyanobactéries	175			
Ruuskanen et al. 2019	E	A	bactéries, archaea				
Yan et al. 2019	E	A	cyanobactéries		pressions anthropiques & climat		
Ahmed et al. 2018	E	A	archaea	14 100	nutriments limitation	abysses	métabarcoding
Alsos et al. 2018	M	T	plantes	surface sed.			
Clarke et al. 2018	E	T	plantes	10 700			
Epp et al. 2018	E	T	plantes				
Ficetola et al. 2018	E	T	lapin				
Harrison et al. 2018	E	A	bactéries, archaea	ca. 50	perturbations géologiques	tempéré	16S rRNA
Kisand et al. 2018	E	bot h	eucaryotes	14 500			
Marshall et al. 2018	E	A	bacteries, archaea, eucaryotes				
Monchamp et al. 2018	E	A	cyanobactéries	100	climat, eutrophisation	tempéré	métabarcoding
Olajos et al. 2018	E	A	poissons				
Tse et al. 2018	E	A	cyanobactéries				
Vuillemin et al. 2018a	E	A	bacteries& archaea	50 000	salinité, matière organiques,	peri-glacial	métabarcoding
Vuillemin et al. 2018b	E	A	bacteries& archaea	ca.3-4000	géochimie,	tropicale	métabarcoding, métagénomique, qPCR
Bremond et al. 2017	E	T	plantes				
Capo et al. 2017a	E	A	protistes	100	climat, eutrophisation	tempéré	métabarcoding
Capo et al. 2017b	M	A	protistes	40	-	boréal	métabarcoding

AUTEURS - ANNEES	OBJECTIFS	ECOSYSTEMES	ORGANISMES CIBLES	PERIODE DE TEMPS	FORCAGES ETUDIÉS	REGIONS CLIMATIQUES	TECHNIQUES MOLECULAIRES
Dulias et al. 2017	E	A	diatomés	surface sed.	vegetation, hydrochimie	arctic-boréal	métabarcoding
Heinecke et al. 2017	E	A	hydrophytes				
Monchamp et al. 2017	E	A	cyanobactéries, Daphnia	100	eutrophisation	tempéré	métabarcoding
Niemeyer et al. 2017	M	T	plantes				
Sabatier et al. 2017	E	T	mammals	6000		tempéré	métabarcoding
Sjögren et al. 2017	E	T	plantes		foresterie	tempéré	
Vuillemin et al. . 2017	E	A	bactéries, archaea	ca.3-4000	géochimie,	tropicale	métabarcoding
Wurzbacher et al. 2017	E	A	bactéries, archaea, eucaryotes	150	Conditions env.	tempéré	DNA+RNA (16S & 18S)
Zimmerman et al. 2017a	E	T	plantes				
Zimmerman et al. 2017b	E	T	plantes				
Alsos et al. 2016	E	T	plantes				
Belle et al. 2016	E	A	bactéries méthanotrophes			tempéré	
Capo et al. 2016	E	A	micro-eucaryotes	2 000	climat, nutriments	tempéré, polaire	métabarcoding
Li et al. 2016	E	A	phytoplancton	18 500	climat	polaire	PCR-DGGE
Monchamp et al. 2016	E	A	cyanobactéries	200	climat, eutrophisation	tempéré	métabarcoding
Vuillemin et al. 2016a	E	A	bactéries& archaea	20'000	salinité, MO	peri-glacial	Sanger sequencing
Vuillemin et al. 2016b	E	A	bactéries& archaea	ca.3-4000	géochimie	tropical	PCR-DGGE
Alsos et al. 2015a	M	T	plantes				
Alsos et al. 2015b	E	T	plantes				
Belle et al. 2015	E	A	bactéries methanotrophes			tempéré	
Capo et al. 2015	M	A	micro-eucaryotes	60	-	tempéré	métabarcoding
Epp et al. 2015	E	both	plantes, copépodes, diatomés	10 000	climat, salinité	polaire	métabarcoding
Etienne et al. 2015	E	T	animals				
Kyle et al. 2015a	M	A	cyanobactéries (Planktothrix sp.)	300	-	boréal	qPCR
Kyle et al. 2015b	E	A	chytrids (Fungi)	30	climat, nutriments	boréal	qPCR
Pal et al. 2015	E	A	cyanobactéries	200	climat, usage terres		16S rRNA; qPCR
Pansu et al. 2015	E	T	plantes	10 000	climat, nutriments	alpin	métabarcoding
Parducci et al. 2015	M	T	plantes	42-52 000			
Pedersen et al. 2015b	E	T	plantes				
Poulain et al. 2015	E	A	bactéries				
Savichtcheva et al. 2015	E	A	cyanobactéries (incl Planktothrix sp.)	100	climat, nutriments	temperé	16S rRNA gene & ITS ; qPCR(up to 300 bp) & CS (up to ~1000 bp)

AUTEURS - ANNEES	OBJECTIFS	ECOSYSTEMES	ORGANISMES CIBLES	PERIODE DE TEMPS	FORCAGES ETUDIÉS	REGIONS CLIMATIQUES	TECHNIQUES MOLECULAIRES
Stoof-Leichsenring et al. 2015	E	A	diatomés (Staurósira sp.)	7 000	climat, géographie	arctic-boreal	Cloning-sequencing
Yang et al. 2015	E	A	archaea				
Belle et al. 2014	E	A	méthanotrophes	~1 500	climat, nutriments	temperate	16S rRNA gene ; qPCR ( ~110 to 200 bp)
Boessenkool et al. 2014	E	T	plantes				
Giguet-Covex et al. 2014	E	T	plantes, animaux	3 000	-	alpine	Illumina MiSeq (mitochondrial 16S gene ~60-84 bp ; chloroplast trnL gene ~ 65-155 bp)
Hou et al. 2014	E	A	phototrophes	3000	climat, salinité, nutriments	alpine	PCR-DGGE, qPCR
Randlett et al. 2014	E	A	haptophytes	270 000	climate	temperate	qPCR-DGGE
Stoof-Leichsenring et al. 2014	E	A	diatomés (Staurósira sp.)	surface sediment	climat, géographie distance	arctic-boreal	Clonage Sequencing (CS)
Domaizon et al. 2013	E	A	cyanobactéries (incl. Synechococcus sp.)	100	climat, nutriments	temperate	16S rRNA_ITS ; (up to ~1000 bp) & qPCR (up to ~300bp)
Parducci et al. 2013	E	T	plantes	10 390			
Pedersen et al. 2013		T	plantes				
Ishida et al. 2012	M	A	Daphnia	50	-	temperate	12s rRNA; PCR
Parducci et al. 2012	E	T	arbres	22 000			
Stoof-Leichsenring et al. 2012	E	A	diatomés	200	climat	tropicale	Cloning-sequencing
Anderson-Carpenter et al. 2011	E	T	plantes	5 000	-	tempéré	Spacer region between atpB & rbcL ; qPCR & CS (82 bp)
Epp et al. 2011	M	A	diatomés	surface sed.	-	aride	PCR-DHPLC (SSU gene)
Savichtcheva et al. 2011	M	A	cyanobactéries (Planktothrix sp.)	70	-	-	qPCR (16S/ITS ; 300bp)
Xu et al. 2011	M	A	copépodes	surface sediments	-	polaire	CS (28S rRNA gene)
Dong et al. 2010	E	A	bactéries				
Epp et al. 2010	E	A	rotifères	~ 200	volcanisme	aride	CS (COI gene)
Madeja et al. 2010	E	T	bactéries	3 000	-	boréal	PCR (~300bp, 500 bp, 650bp) and nested PCR
Coolen et al. 2008	E	A	méthanotrophes	10 000	salinity	polaire	qPCR-DGGE (specific primers on 16S rRNA gene)
Matisoo-Smith et al. 2008	M	T	bactéries	3 800			
Nelson et al. 2007	E	A	bactéries, archaea	11 000	climat	tempéré	16S rRNA ; DGGE (V3 region ~250 bp)
Takishita et al. 2007	M	A	protistes	surface sed.	-	tempéré	CS (18S rRNA gene)

AUTEURS - ANNEES	OBJECTIFS	ECOSYSTEMES	ORGANISMES CIBLES	PERIODE DE TEMPS	FORCAGES ETUDIÉS	REGIONS CLIMATIQUES	TECHNIQUES MOLECULAIRES
Bisset et al. 2005	M	A	copépodes	65 000	-	polar	CS (28S rRNA gene ; from eggs and sediments)
Coolen et al. 2004a	E	A	haptophytes, diatomés	10 000	salinité	polaire	PCR-DGGE (498 bp and 556 bp)
Coolen et al. 2004b	E	A	methanogenes, methanotrophes				
Limburg and Weider	E	A	daphnia	4500		tempéré	microsatellite
Coolen & Overmann 1998	E	A	bactéries pourpre (sulfureuses)				
Balint et al. 2018	M	A	eucaryotes	70		tempéré	métabarcoding
Evrard et al. 2019	G	T	plantes			tempéré	métabarcoding
Billard et al. 2015	E	A	archaea, bactéries, eucaryotes				
Vuillemin et al. 2014	E	A	méthanogènes	12'000	climat, MO	peri-glaciaire	Sanger séquençage

## VI. Références bibliographiques

Albert, J.S., Destouni, G., Duke-Sylvester, S.M. et al. (2021) Scientists' warning to humanity on the freshwater biodiversity crisis. *Ambio* 50, 85–94. <https://doi.org/10.1007/s13280-020-01318-8>

Alsos IG, Lammers Y, Yoccoz NG, et al (2018) Plant DNA metabarcoding of lake sediments: How does it represent the contemporary vegetation. *PLoS ONE* 13:e0195403. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195403>

Anderson-Carpenter LL, McLachlan JS, Jackson ST, et al (2011) Ancient DNA from lake sediments: Bridging the gap between paleoecology and genetics. *BMC Evol Biol* 11:30. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-11-30>

Armbrecht L, Herrando-Pérez S, Eisenhofer R, et al (2020) An optimized method for the extraction of ancient eukaryote DNA from marine sediments. *Mol Ecol Resour* 20:906–919. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13162>

Armbrecht LH, Coolen MJL, Lejzerowicz F, et al (2019) Ancient DNA from marine sediments: Precautions and considerations for seafloor coring, sample handling and data generation. *Earth-Science Reviews* 196:102887. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2019.102887>

Barouillet C, Vasselon V, Keck F, et al (2021) Changes in Ciliate Communities Reveal Modification of Lake Functioning Over the Last Century. In Review

Battarbee RW, Morley D, Bennion H, et al (2011) A palaeolimnological meta-database for assessing the ecological status of lakes. *J Paleolimnol* 45:405–414. <https://doi.org/10.1007/s10933-010-9417-5>

- Belle S, Millet L, Verneaux V, et al (2016) 20th century human pressures drive reductions in deepwater oxygen leading to losses of benthic methane-based food webs. *Quaternary Science Reviews* 137:209–220. <https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2016.02.019>
- Belle S, Parent C (2019) Reconstruction of Past Dynamics of Methane-Oxidizing Bacteria in Lake Sediments Using a Quantitative PCR Method: Connecting Past Environmental Changes and Microbial Community. *Geomicrobiology Journal* 36:570–579. <https://doi.org/10.1080/01490451.2019.1583698>
- Bennion H, Simpson GL, Goldsmith BJ (2015) Assessing degradation and recovery pathways in lakes impacted by eutrophication using the sediment record. *Front Ecol Evol* 3:. <https://doi.org/10.3389/fevo.2015.00094>
- Birks HJB, Berglund BE (2018) One hundred years of Quaternary pollen analysis 1916–2016. *Veget Hist Archaeobot* 27:271–309. <https://doi.org/10.1007/s00334-017-0630-2>
- Boere AC, Rijpstra WIC, De Lange GJ, et al (2011) Preservation potential of ancient plankton DNA in Pleistocene marine sediments: Sedimentary ancient DNA. *Geobiology* 9:377–393. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4669.2011.00290.x>
- Capo E, Debroas D, Arnaud F, et al (2016) Long-term dynamics in microbial eukaryotes communities: a palaeolimnological view based on sedimentary DNA. *Mol Ecol* 25:5925–5943. <https://doi.org/10.1111/mec.13893>
- Capo E, Domaizon I, Maier D, et al (2017) To what extent is the DNA of microbial eukaryotes modified during burying into lake sediments? A repeat-coring approach on annually laminated sediments. *J Paleolimnol* 58:479–495. <https://doi.org/10.1007/s10933-017-0005-9>
- Capo E, Giguët-Covex C, Rouillard A, et al (2021) Lake Sedimentary DNA Research on Past Terrestrial and Aquatic Biodiversity: Overview and Recommendations. *Quaternary* 4:6. <https://doi.org/10.3390/quat4010006>
- Capo E, Ninnes, S, Domaizon I, et al (2021b) Landscape Setting Drives the Microbial Eukaryotic Community Structure in Four Swedish Mountain Lakes over the Holocene. *Microorganisms*, 9, 355. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9020355>
- Clarke CL, Edwards ME, Brown AG, et al (2019a) Holocene floristic diversity and richness in northeast Norway revealed by sedimentary ancient DNA ( *sed a DNA* ) and pollen. *Boreas* 48:299–316. <https://doi.org/10.1111/bor.12357>
- Clarke CL, Edwards ME, Gielly L, et al (2019b) Persistence of arctic-alpine flora during 24,000 years of environmental change in the Polar Urals. *Sci Rep* 9:19613. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55989-9>
- Coolen MJL, Overmann J (1998) Analysis of Subfossil Molecular Remains of Purple Sulfur Bacteria in a Lake Sediment. *Appl Environ Microbiol* 64:4513–4521. <https://doi.org/10.1128/AEM.64.11.4513-4521.1998>
- Coolen MJ, Gibson JA (2009) Ancient DNA in lake sediment records. *PAGES news* 17:104–106. <https://doi.org/10.22498/pages.17.3.104>
- Coolen MJL, Boere A, Abbas B, et al (2006) Ancient DNA derived from alkenone-biosynthesizing haptophytes and other algae in Holocene sediments from the Black Sea: ancient DNA in Holocene Black Sea sediments. *Paleoceanography* 21:n/a-n/a. <https://doi.org/10.1029/2005PA001188>
- Coolen MJL, et al (2004a) Evolution of the methane cycle in Ace Lake (Antarctica) during the Holocene: Response of methanogens and methanotrophs to environmental change. *Org. Geochem.* 35, 1151–1167, doi:10.1016/j.orggeochem.2004.06.009.

- Coolen MJL, et al (2004b) Combined DNA and lipid analyses of sediments reveal changes in Holocene haptophyte and diatom populations in an Antarctic lake. *Earth Planet. Sci. Lett.* 223, 225–239, doi:10.1016/j.epsl.2004.04.014.
- Coolen MJL, Orsi WD, Balkema C, et al (2013) Evolution of the plankton paleome in the Black Sea from the Deglacial to Anthropocene. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110:8609–8614. <https://doi.org/10.1073/pnas.1219283110>
- Dearing J, Acma B, Bub S, et al (2015) Social-ecological systems in the Anthropocene: The need for integrating social and biophysical records at regional scales. *The Anthropocene Review* 2:220–246. <https://doi.org/10.1177/2053019615579128>
- Dell'Anno A, Stefano B, Danovaro R (2002) Quantification, base composition, and fate of extracellular DNA in marine sediments. *Limnol Oceanogr* 47:899–905. <https://doi.org/10.4319/lo.2002.47.3.0899>
- Domaizon I, Savichtcheva O, Debroas D, et al (2013) DNA from lake sediments reveals the long-term dynamics and diversity of *Synechococcus* assemblages. *Biogeosciences* 10:3817–3838. <https://doi.org/10.5194/bg-10-3817-2013>
- Domaizon I, Winegardner A, Capo E, et al (2017) DNA-based methods in paleolimnology: new opportunities for investigating long-term dynamics of lacustrine biodiversity. *J Paleolimnol* 58:1–21. <https://doi.org/10.1007/s10933-017-9958-y>
- Dudgeon D. (2019) Multiple threats imperil freshwater biodiversity in the Anthropocene, *Current Biology*, 29 (19). <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.08.002>.
- Dulias K, Stoof-Leichsenring KR, Pestryakova LA, Herzs Schuh U (2017) Sedimentary DNA versus morphology in the analysis of diatom-environment relationships. *J Paleolimnol* 57:51–66. <https://doi.org/10.1007/s10933-016-9926-y>
- Edwards ME (2020) The maturing relationship between Quaternary paleoecology and ancient sedimentary DNA. *Quat res* 96:39–47. <https://doi.org/10.1017/qua.2020.52>
- Ellegaard M, Clokie MRJ, Czypionka T, et al (2020) Dead or alive: sediment DNA archives as tools for tracking aquatic evolution and adaptation. *Commun Biol* 3:169. <https://doi.org/10.1038/s42003-020-0899-z>
- Emerson JB, Adams RI, Román CMB, et al (2017) Schrödinger's microbes: Tools for distinguishing the living from the dead in microbial ecosystems. *Microbiome* 5:86. <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0285-3>
- Epp LS, Gussarova G, Boessenkool S, et al (2015) Lake sediment multi-taxon DNA from North Greenland records early post-glacial appearance of vascular plants and accurately tracks environmental changes. *Quaternary Science Reviews* 117:152–163. <https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2015.03.027>
- Epp LS, Stoof KR, Trauth MH, Tiedemann R (2010) Historical genetics on a sediment core from a Kenyan lake: intraspecific genotype turnover in a tropical rotifer is related to past environmental changes. *J Paleolimnol* 43:939–954. <https://doi.org/10.1007/s10933-009-9379-7>
- Ficetola GF, Poulenard J, Sabatier P, et al (2018) DNA from lake sediments reveals long-term ecosystem changes after a biological invasion. *Sci Adv* 4:eaar4292. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aar4292>
- Giguet-Covex C, Ficetola GF, Walsh K, et al (2019a) New insights on lake sediment DNA from the catchment: importance of taphonomic and analytical issues on the record quality. *Sci Rep* 9:14676. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50339-1>

- Giguet-Covex C, Ficetola GF, Walsh K, et al (2019b) New insights on lake sediment DNA from the catchment: importance of taphonomic and analytical issues on the record quality. *Sci Rep* 9:14676. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50339-1>
- Giguet-Covex C, Pansu J, Arnaud F, et al (2014) Long livestock farming history and human landscape shaping revealed by lake sediment DNA. *Nat Commun* 5:3211. <https://doi.org/10.1038/ncomms4211>
- Heise J, Nega M, Alawi M, Wagner D (2016) Propidium monoazide treatment to distinguish between live and dead methanogens in pure cultures and environmental samples. *Journal of Microbiological Methods* 121:11–23. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2015.12.002>
- Jenny J-P, Anneville O, Arnaud F, et al (2020) Scientists' Warning to Humanity: Rapid degradation of the world's large lakes. *Journal of Great Lakes Research* 46:686–702. <https://doi.org/10.1016/j.jglr.2020.05.006>
- Jenny J-P, Francus P, Normandeau A, et al (2016) Global spread of hypoxia in freshwater ecosystems during the last three centuries is caused by rising local human pressure. *Glob Change Biol* 22:1481–1489. <https://doi.org/10.1111/gcb.13193>
- Jia W, Liu X, Stoof-Leichsenring KR, et al (2021) Preservation of sedimentary plant DNA is related to lake water chemistry. *Environmental DNA* edn3.259. <https://doi.org/10.1002/edn3.259>
- Jørgensen BB (2011) Deep seafloor microbial cells on physiological standby. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108:18193–18194. <https://doi.org/10.1073/pnas.1115421108>
- Kanbar HJ, Olajos F, Englund G, Holmboe M (2020) Geochemical identification of potential DNA-hotspots and DNA-infrared fingerprints in lake sediments. *Applied Geochemistry* 122:104728. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2020.104728>
- Keck F, Millet L, Debroas D, et al (2020) Assessing the response of micro-eukaryotic diversity to the Great Acceleration using lake sedimentary DNA. *Nature Communications* 11:3831. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-17682-8>
- Lejzerowicz F, Esling P, Majewski W, et al (2013) Ancient DNA complements microfossil record in deep-sea subsurface sediments. *Biol Lett* 9:20130283. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2013.0283>
- Mace GM, Norris K, Fitter AH (2012) Biodiversity and ecosystem services: a multilayered relationship. *Trends in Ecology & Evolution* 27:19–26. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2011.08.006>
- Meyers PA (2003) Applications of organic geochemistry to paleolimnological reconstructions: a summary of examples from the Laurentian Great Lakes. *Organic Geochemistry* 34:261–289. [https://doi.org/10.1016/S0146-6380\(02\)00168-7](https://doi.org/10.1016/S0146-6380(02)00168-7)
- Monchamp M-E, Enache I, Turko P, et al (2017) Sedimentary and egg-bank DNA from 3 European lakes reveal concurrent changes in the composition and diversity of cyanobacterial and *Daphnia* communities. *Hydrobiologia* 800:155–172. <https://doi.org/10.1007/s10750-017-3247-7>
- Monchamp M-E, Spaak P, Domaizon I, et al (2018) Homogenization of lake cyanobacterial communities over a century of climate change and eutrophication. *Nat Ecol Evol* 2:317–324. <https://doi.org/10.1038/s41559-017-0407-0>
- Orlando L, Cooper A (2014) Using Ancient DNA to Understand Evolutionary and Ecological Processes. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 45:573–598. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-120213-091712>
- Paterson, A.M., et al. 2020. Preface: paleolimnology and lake management, *Lake and Reservoir Management*, 36:3, 205-209, DOI: 10.1080/10402381.2020.1805998



- Pansu J, Giguet-Covex C, Ficetola GF, et al (2015) Reconstructing long-term human impacts on plant communities: an ecological approach based on lake sediment DNA. *Mol Ecol* 24:1485–1498. <https://doi.org/10.1111/mec.13136>
- Parducci L, Bennett KD, Ficetola GF, et al (2017) Ancient plant DNA in lake sediments. *New Phytol* 214:924–942. <https://doi.org/10.1111/nph.14470>
- Parducci L, Nota K, Wood J (2018) Reconstructing Past Vegetation Communities Using Ancient DNA from Lake Sediments. In: Lindqvist C, Rajora OP (eds) *Paleogenomics*. Springer International Publishing, Cham, pp 163–187
- Pearman JK, Biessy L, Howarth JD, et al (2021) Deciphering the molecular signal from past and alive bacterial communities in aquatic sedimentary archives. *Mol Ecol Resour* 1755–0998.13515. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13515>
- Pedersen MW, Overballe-Petersen S, Ermini L, et al (2015) Ancient and modern environmental DNA. *Phil Trans R Soc B* 370:20130383. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0383>
- Pedersen MW, Ruter A, Schweger C, et al (2016) Postglacial viability and colonization in North America's ice-free corridor. *Nature* 537:45–49. <https://doi.org/10.1038/nature19085>
- Perga M-E, Frossard V, Jenny J-P, et al (2015) High-resolution paleolimnology opens new management perspectives for lakes adaptation to climate warming. *Front Ecol Evol* 3:. <https://doi.org/10.3389/fevo.2015.00072>
- Randlett M-È, Coolen MJL, Stockhecke M, et al (2014) Alkenone distribution in Lake Van sediment over the last 270 ka: influence of temperature and haptophyte species composition. *Quaternary Science Reviews* 104:53–62. <https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2014.07.009>
- Rizzi E, Lari M, Gigli E, et al (2012) Ancient DNA studies: new perspectives on old samples. *Genet Sel Evol* 44:21. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-44-21>
- Savichtcheva O, Debroas D, Perga ME, et al (2015) Effects of nutrients and warming on *Planktothrix* dynamics and diversity: a palaeolimnological view based on sedimentary DNA and RNA. *Freshw Biol* 60:31–49. <https://doi.org/10.1111/fwb.12465>
- Sjögren P, Edwards ME, Gielly L, et al (2017) Lake sedimentary DNA accurately records 20<sup>th</sup> Century introductions of exotic conifers in Scotland. *New Phytol* 213:929–941. <https://doi.org/10.1111/nph.14199>
- Smith O, Gilbert MTP (2018) Ancient RNA. In: Lindqvist C, Rajora OP (eds) *Paleogenomics*. Springer International Publishing, Cham, pp 53–74
- Smol JP (2008) *Pollution of lakes and rivers: a paleoenvironmental perspective*, 2nd ed. Blackwell Pub, Malden, MA
- Smol JP (1992) Paleolimnology: an important tool for effective ecosystem management. *J Aquat Ecosyst Stress Recov* 1:49–58. <https://doi.org/10.1007/BF00044408>
- Stoof-Leichsenring KR, Epp LS, Trauth MH, Tiedemann R (2012) Hidden diversity in diatoms of Kenyan Lake Naivasha: a genetic approach detects temporal variation: hidden generic diversity in Kenyan diatoms. *Molecular Ecology* 21:1918–1930. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05412.x>
- Taranu ZE, Carpenter SR, Frossard V, et al (2018) Can we detect ecosystem critical transitions and signals of changing resilience from paleo-ecological records? *Ecosphere* 9:. <https://doi.org/10.1002/ecs2.2438>
- Thomsen PF, Kielgast J, Iversen LL, et al (2012) Monitoring endangered freshwater biodiversity using environmental DNA: SPECIES MONITORING BY ENVIRONMENTAL DNA. *Molecular*

Ecology 21:2565–2573. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05418.x>

Torti A, Lever MA, Jørgensen BB (2015) Origin, dynamics, and implications of extracellular DNA pools in marine sediments. *Marine Genomics* 24:185–196. <https://doi.org/10.1016/j.margen.2015.08.007>

Tse TJ, Doig LE, Tang S, et al (2018) Combining High-Throughput Sequencing of *seda* DNA and Traditional Paleolimnological Techniques To Infer Historical Trends in Cyanobacterial Communities. *Environ Sci Technol* 52:6842–6853. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b06386>

Vuillemin A, Horn F, Alawi M, et al (2017) Preservation and Significance of Extracellular DNA in Ferruginous Sediments from Lake Towuti, Indonesia. *Front Microbiol* 8:1440. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01440>

Vuillemin A, Kerrigan Z, D'Hondt S, Orsi WD (2020) Exploring the abundance, metabolic potential and gene expression of subseafloor Chloroflexi in million-year-old oxic and anoxic abyssal clay. *FEMS Microbiology Ecology* 96:fiaa223. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiaa223>

Willerslev E, Cooper A (2005) Ancient DNA. *Proc R Soc B* 272:3–16. <https://doi.org/10.1098/rspb.2004.2813>

Zinger L, Bonin A, Alsos IG, et al (2019) DNA metabarcoding—Need for robust experimental designs to draw sound ecological conclusions. *Mol Ecol* 28:1857–1862. <https://doi.org/10.1111/mec.15060>

