



**HAL**  
open science

## Effets des barrages de la Sélune sur le fonctionnement des réseaux trophiques : état des lieux pré-arasement

Jean-Marc Roussel, Julie Coudreuse, Caroline Gorzerino, J.M. Paillisson, A. Pannard, Eric Petit, C. Piscart, Maxime Poupelin

### ► To cite this version:

Jean-Marc Roussel, Julie Coudreuse, Caroline Gorzerino, J.M. Paillisson, A. Pannard, et al.. Effets des barrages de la Sélune sur le fonctionnement des réseaux trophiques : état des lieux pré-arasement. [Rapport de recherche] Agence de l'Eau Seine-Normandie. 2019, pp.133. hal-03357189

**HAL Id: hal-03357189**

**<https://hal.inrae.fr/hal-03357189v1>**

Submitted on 28 Sep 2021

**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.



Distributed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

# Effets des barrages de la Sélune sur le fonctionnement des réseaux trophiques : état des lieux pré-arasement

## Rapport final de l'étude 2014-2019

Jean-Marc Roussel<sup>1,2</sup>, Julie Coudreuse<sup>1</sup>, Caroline Gorzerino<sup>1</sup>, Jean-Marc Paillisson<sup>3</sup>,  
Alexandrine Pannard<sup>3</sup>, Eric Petit<sup>1</sup>, Christophe Piscart<sup>3</sup>, Maxime Poupelin<sup>1</sup>

1. UMR ESE Ecologie et Santé des Ecosystèmes (INRA / Agrocampus-Ouest, Rennes)
2. Pole de Gestion des Migrateurs Amphihalins dans leur Environnement (AFB / INRA / Agrocampus Ouest / Univ Pau Pays de l'Adour, Rennes)
3. UMR ECOBIO Ecosystèmes, Biodiversité, Evolution (CNRS / Université Rennes 1, Rennes)



## Présentation du rapport :

Résumé .....	3
Présentation de l'étude .....	4
Contexte .....	4
Rappel de l'objectif général de l'étude .....	4
Moyens mis en œuvre.....	4
Organisation du rapport final de l'étude .....	5
Résultats obtenus.....	7
Une grande variabilité physicochimique sur le bassin versant .....	7
Des discontinuités fonctionnelles sur l'axe amont-aval .....	8
Le fonctionnement des écosystèmes lacustres .....	9
Des communautés différentes entre les lacs et le fleuve .....	11
Quelles différences pour l'écosystème lotique à l'aval des lacs actuels ? .....	12
Quelles différences de fonctionnement sur les affluents par rapport au fleuve ? .....	14
L'analyse de l'ADN dans l'eau permet-elle de détecter l'écrevisse invasive ? .....	20
Quel effet l'écrevisse du Pacifique a-t-elle sur les réseaux trophiques ? .....	22
Conclusion .....	23
Bibliographie .....	25
Annexes.....	26
Rapport d'avancement 2015.....	27
Rapport d'avancement 2016.....	28
Rapport d'avancement 2017 .....	29
Documents complémentaires au rapport final .....	30

## Résumé

Ce rapport présente les recherches menées pendant 5 années sur le fonctionnement des écosystèmes aquatiques de la Sélune. Il offre un état des lieux de la situation écologique avant la disparition des deux grands lacs sur son cours principal, l'arasement des barrages et la remise en continuité source-océan. Les principaux résultats sont présentés de manière synthétique, un ensemble plus détaillé (notamment donné dans les rapports intermédiaires annuels) étant annexé à ce rapport final. Par une approche à l'échelle du bassin versant (incluant le cours principal du fleuve, ses affluents et ses lacs), les biocénoses aquatiques au sens large, des microorganismes photosynthétiques aux poissons, ont été étudiées sous l'angle de la structure des communautés par des inventaires dans chaque groupe, sous l'angle des fonctions écologiques comme l'activité photosynthétique et la dégradation de la matière organique, ou encore sous l'angle du fonctionnement des réseaux trophiques grâce à l'étude des isotopes stables. Un travail spécifique sur l'écrevisse invasive, dont on pense qu'elle peut modifier fortement les biocénoses natives et les équilibres écologiques, a été mené en parallèle.

Les principaux résultats mettent en évidence les ruptures de continuité amont-aval et aval-amont engendrées par les barrages actuels, et leurs conséquences en matière de fonctionnement écologique. Notamment, on met en évidence une forte production dans les lacs, dont la tendance eutrophe se traduit de manière récurrente par l'apparition de blooms à cyanobactéries. Le blocage du transfert naturel des nutriments marins vers l'amont *via* les poissons diadromes est souligné. Le fonctionnement forcé de l'écosystème lotique à l'aval des barrages actuels est analysé. On relève aussi que les ressources trophiques disponibles à l'amont des barrages, dans le cours principal ou dans les affluents, sont propices à accueillir les populations de poissons diadromes dès la remise en continuité. Enfin, on estime que les fortes abondances d'écrevisses du Pacifique dans les cours d'eau à l'amont des barrages n'entraînent pas de bouleversement majeur du fonctionnement actuel des réseaux trophiques.

Le rétablissement des continuités écologiques amont-aval et aval-amont va permettre de gommer certaines spécificités du fonctionnement écologique du fleuve actuellement observées à l'aval des barrages. Les nouveaux habitats lotiques dans les gorges de la Sélune devraient être propices en terme de production de nourriture pour les juvéniles de poissons migrateurs, saumon en particulier, alors que les affluents en tête de bassin versant seront favorables à l'établissement de l'anguille. Ces espèces diadromes vont modifier la pression de prédation sur les réseaux trophiques à l'amont, et l'une des conséquences prévisibles est la baisse des abondances d'écrevisses, dont l'anguille est consommatrice. Le risque de mise en place d'un écosystème instable, avec notamment l'apparition de bloom à cyanobactérie, semble mineur. Une attention particulière devra toutefois être portée sur l'évolution du silure à l'aval des gorges, dont la présence d'une population naturalisée et fonctionnelle est confirmée par des observations récentes sur le terrain.

Ainsi, les recherches réalisées dans le projet « réseaux trophiques » ont révélé certains traits principaux de fonctionnement et de dysfonctionnement des écosystèmes aquatiques de la Sélune en présence des barrages et de leurs lacs. Cet état des lieux donne des éléments clés pour comprendre la restauration fonctionnelle de l'écosystème dans les années qui suivront la remise en continuité écologique par l'arasement des barrages.

## Présentation de l'étude

### Contexte

Le projet sur les réseaux trophiques s'intéresse aux biocénoses aquatiques présentes sur la Sélune dans une approche large, allant des microorganismes aux poissons, dans les affluents et le fleuve lui-même de sa source à l'entrée dans l'estuaire. Sans focaliser sur un groupe taxonomique ou une communauté d'espèces en particulier, la démarche vise à étudier les interactions entre ces composantes biologiques, avec pour objectif principal de comprendre le fonctionnement général de l'écosystème. Les interactions trophiques sous-tendent en grande partie les équilibres (et les déséquilibres) que l'on peut observer au sein des écosystèmes. En décrivant le fonctionnement des écosystèmes, ce type d'approche sur les réseaux trophiques est souvent qualifiée de fonctionnelle. A l'étude des communautés aquatiques et leurs interactions, des mesures complémentaires peuvent être faites sur certaines fonctions essentielles de l'écosystème. Pris dans son ensemble, le travail sur les réseaux trophiques doit nous permettre de comprendre les équilibres dans les écosystèmes aquatiques, des têtes de bassin versant jusqu'à l'aval du fleuve, avant (état des lieux) et après (restauration du fleuve) remise en continuité par arasement des barrages.

Les recherches engagées sur la période 2014-2019 visent à faire un état des lieux sur le fonctionnement des écosystèmes aquatiques de la Sélune avant arasement. Notamment, elles doivent apporter des réponses aux questions génériques suivantes : quel rôle jouent les barrages et leurs lacs dans l'organisation des biocénoses aquatiques dans le fleuve, et dans le fonctionnement de cet écosystème ? Comment l'écosystème rivière se restaure-t-il à l'emplacement précis d'un lac de barrage après vidange ? Quels rôles ont certaines espèces clés (notamment les poissons amphihalins et les espèces invasives) dans les équilibres écologiques ? Quelles conséquences peut-on attendre des opérations de démantèlement de barrages, des têtes de bassin versant à l'entrée de l'estuaire, sur ces biocénoses et le fonctionnement de l'écosystème fleuve reconnecté à l'océan ?

Dans une perspective plus lointaine, cet état des lieux devra permettre de suivre les modifications engendrées par la restauration des continuités écologiques, et notamment les nouveaux équilibres qui s'installeront au sein des biocénoses aquatiques du fleuve restauré.

### Rappel de l'objectif général de l'étude

Suivant le calendrier initial du démantèlement, la période du projet (2014-2019) devait couvrir le retour à des habitats d'eau courant à l'emplacement de l'ancien lac de l'amont (lac de Vezins). Compte tenu des retards sur les opérations de démantèlement, l'objectif de suivre la mise en place des nouveaux équilibres trophiques dans les néo-habitats d'eau courante n'a pas été possible. Ainsi, les recherches se sont attachées à établir, avant les opérations de vidange et la remise en continuité écologique, un état de lieux des réseaux trophiques et du fonctionnement de l'écosystème aquatique sur le fleuve (hors estuaire), ses affluents et dans les lacs de barrage.

### Moyens mis en œuvre

Pour parvenir à cet objectif, nous avons travaillé sur un ensemble de 16 stations de référence, réparties sur le cours principal du fleuve (6 stations) et sur certains de ses affluents (10 stations, Figure 1). Les différentes méthodologies qui ont été déployées pour l'étude des réseaux trophiques sont listées ci-dessous, sachant que plus de précisions sont données au fil des différentes parties de ce rapport :

- Des mesures de la qualité physicochimique de l'eau, notamment température, oxygène dissous, pH, conductivité et concentration en nutriments (orthophosphates, nitrates, phosphore et azote totaux dissous et particulaires).
- Des inventaires de communautés grâce à des protocoles dédiés selon les groupes taxonomiques ciblés, microorganismes photosynthétiques, plantes aquatiques, macroinvertébrés, macrocrustacés et poissons. Dans chaque cas, les communautés ont été décrites sous l'angle trophique, sur la base des connaissances *a priori* sur leur physiologie, leurs traits alimentaires et groupes fonctionnels, et des biomasses impliquées.

- Une estimation de deux fonctions essentielles de l'écosystème, la dégradation de la matière organique grossière (litière de feuilles d'arbre) par la voie détritique, et l'activité photosynthétique des microorganismes et des biofilms de la voie algale.
- Une analyse des interactions trophiques par la méthode des isotopes stables. Cette méthode offre l'avantage de révéler la configuration générale des réseaux trophiques et les voies de transfert de l'énergie au sein des réseaux. Elle simplifie néanmoins à l'extrême la lecture des interactions trophiques, et ne permet pas d'étudier les relations proies-consommateurs.

Il était initialement prévu d'étudier les prédateur-proie par la recherche d'ADN de proies dans les contenus digestifs des consommateurs (ADN alimentaire). Ce travail n'a cependant pas été développé dans le cadre du projet, car des premiers essais ont rapidement souligné des difficultés techniques dont la résolution aurait nécessité un investissement technique au-delà de la programmation initiale.

De plus, des investigations supplémentaires ont été faites au-delà des 16 stations de référence. Il s'agissait notamment :

- D'étudier les variations des isotopes stables le long du continuum source-estuaire pour souligner d'éventuelles discontinuités fonctionnelles de l'écosystème aquatique. Pour cela, un maillage plus dense de stations a été réalisé (Figure 1), en ne ciblant certains taxons clé.
- De mettre à jour la distribution spatiale des écrevisses invasives sur le bassin de la Sélune, par l'analyse des données historiques existantes, par piégeages *in situ* et grâce à la mise au point d'une méthode de détection par recherche d'ADN dans des prélèvements d'eau (ADNe), en ciblant notamment les confluences affluents/fleuve (Figure 2).

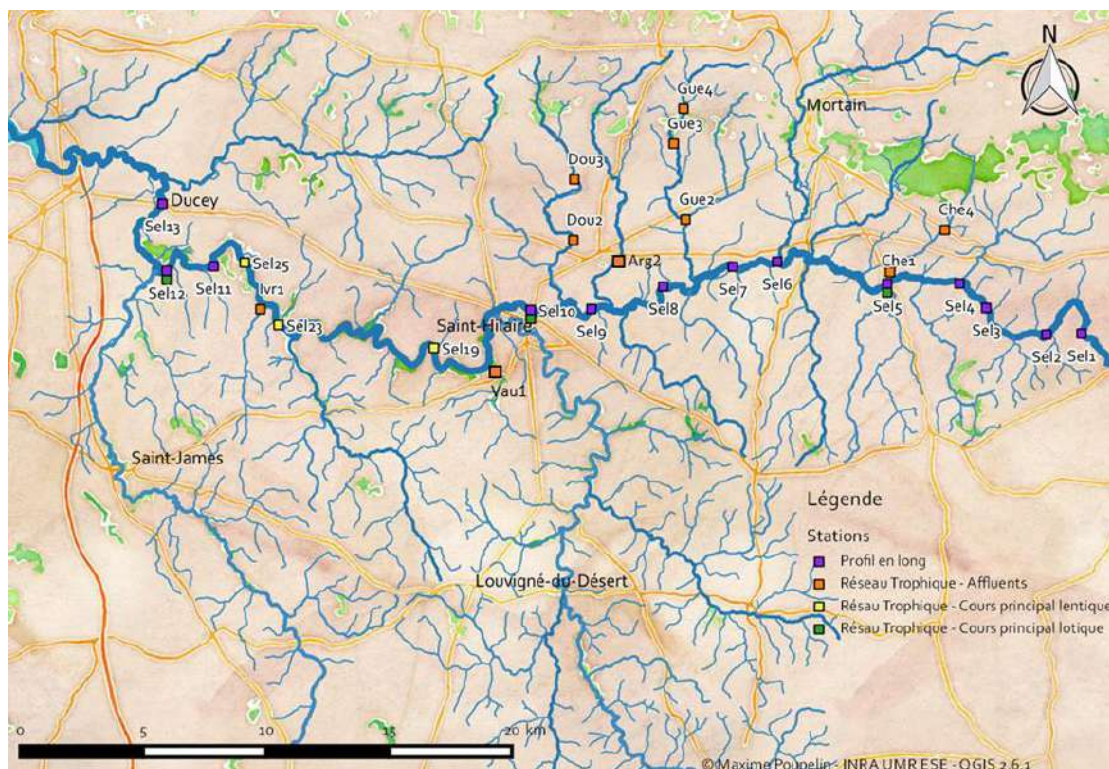
Ce travail particulier sur les écrevisses invasives se justifiait par la capacité avérée de ces espèces à modifier fortement l'écosystème qui les héberge. L'écrevisse du Pacifique, *Pacifastacus leniusculus*, a été particulièrement ciblée, ses abondances pouvant être fortes par endroit sur le bassin de la Sélune.

Pour finir, il convient d'ajouter qu'un projet parallèle a été réalisé dans la partie maritime de la Sélune et la Petite Baie du Mont Saint-Michel, sur la période 2016-2017. Une équipe Agrocampus-Ouest et IFREMER Dinard a réalisé des inventaires de communautés benthiques (invertébrés et poissons) et elle a procédé à l'étude des réseaux trophiques par analyse des contenus stomacaux et des isotopes stables (convention n° 1 066 356). Les résultats et les conclusions ne sont pas présentés ici, les deux projets ayant été conduits de manière autonome.

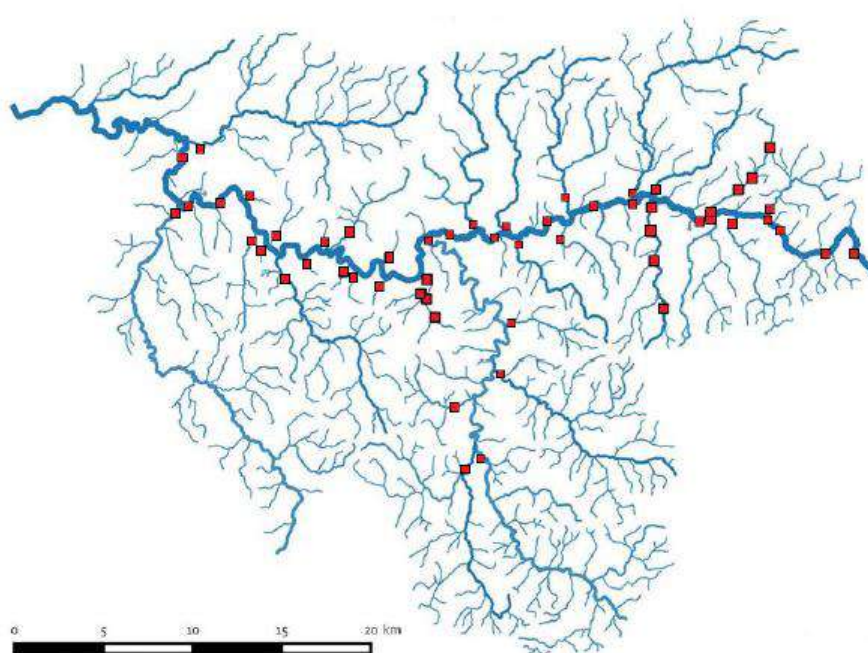
## Organisation du rapport final de l'étude

L'étude sur les réseaux trophiques de la Sélune a donné lieu à la rédaction de 3 rapports d'avancement en 2016, 2017 et 2018. Ils présentent les méthodes mises en œuvre et les résultats intermédiaires obtenus. Ils sont annexés à ce rapport final, de même que certains documents complémentaires ayant servi à sa rédaction. Ceci permet d'avoir l'ensemble de la production du projet dans un document unique.

Pour préparer le document principal de ce rapport final, le parti pris a été celui d'une présentation sélective des résultats des recherches réalisées. En effet, pour être complémentaire aux rapports intermédiaires, il est important de mettre l'accent sur les convergences (ou les dissonances) majeures des résultats obtenus lors des multiples investigations réalisées. Ceci doit permettre de souligner particulièrement les principaux éléments obtenus, et ainsi l'apport de connaissance sur le fonctionnement des écosystèmes aquatiques de la Sélune avant sa remise en continuité. Aussi, certains détails méthodologiques et résultats intermédiaires ou non concluants sont volontairement omis dans ce rapport. Ils peuvent être retrouvés cependant en annexe.



**Figure 1.** Les stations principales de l'étude sur les communautés aquatiques et le fonctionnement des réseaux trophiques, en affluents (orange, 10 stations), sur le fleuve (vert, 4 stations) et dans les lacs (jaune, 2 stations). Les stations supplémentaires pour l'étude des profils isotopiques le long du continuum amont-aval sont indiquées en violet (13 stations).

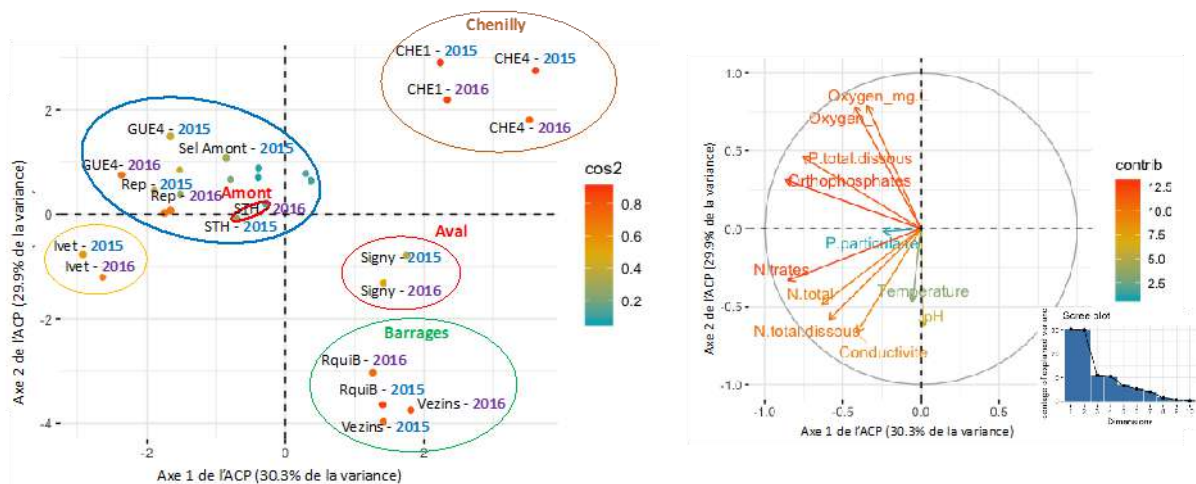


**Figure 2.** Les stations supports de l'étude sur la distribution de l'écrevisse du Pacifique par détection moléculaire.

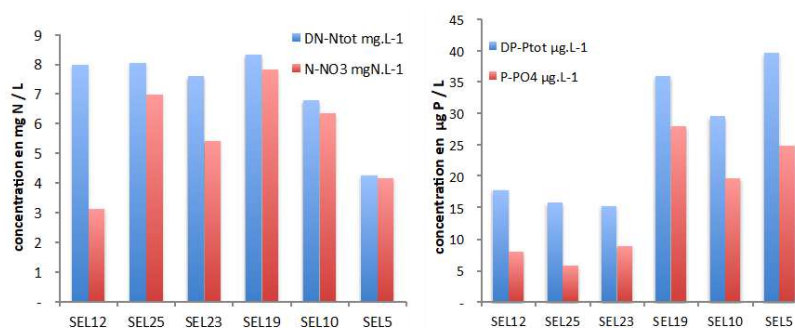
## Résultats obtenus

### Une grande variabilité physicochimique sur le bassin versant

Les affluents et le cours principal de la Sélune ont été échantillonnés en début d'été 2015 et 2016. Les paramètres physico-chimiques des stations d'étude ont été caractérisés (température, conductivité, pH, oxygène dissous et turbidité) grâce à une sonde multiparamétrique (Idronaut). Des prélèvements d'eau ont également été effectués afin d'analyser les concentrations en nutriments. On remarque que les eaux présentent des caractéristiques physico-chimiques proches d'une année à l'autre, comme indiqué par la proximité des points sur l'analyse en composante principale (Figure 3). Cinq groupes se singularisent : les lacs des barrages de Vezins et Roche-qui-Boit, la station de Signy (aval des barrages), le ruisseau de Chenilly, le ruisseau de l'Ivret, et le reste des stations sur le fleuve et les affluents situés à l'amont des lacs. Le ruisseau de Chenilly, qui fait l'objet d'un captage d'eau potable, présente une conductivité et des concentrations en azote les plus faibles. Les lacs des barrages et le fleuve à leur aval (station Signy) présentent les eaux les moins oxygénées et les concentrations les plus faibles en phosphore dissous. On remarque aussi que les lacs agissent en séquestrant les nutriments phosphorés, ce qui n'est pas le cas pour les nutriments azotés (Figure 4).



**Figure 3.** Analyse en composante principale (ACP) des caractéristiques physico-chimiques des eaux des affluents et du cours principal (mesurées en juin 2015 et 2016). [STH = SEL10 Saint-Hilaire, REP = SEL19 Pont de la République, VEZ = SEL23 lac de Vezins, RquiB = SEL25 lac de Roche-qui-Boit, Signy = SEL12 Pont de Signy, Sel Amont = SEL05]



**Figure 4.** Concentration en nutriments aux différentes stations : (a) concentration en nitrates et azote total dissous et (b) concentrations en orthophosphates et phosphore total dissous.

La température, le pH et le phosphore particulaire n'ont pas contribué à la distinction des masses d'eaux, probablement à cause de leur forte variabilité temporelle qui aurait nécessité des enregistrements plus



fréquents (des valeurs ponctuelles ne sont pas suffisantes). Cependant, les suivis plus fréquents réalisés dans le cadre de l'Observatoire de l'Environnement mis en place sur la Sélune montrent clairement que les lacs réchauffent l'eau du fleuve à l'aval, capturent la silice (production de diatomées dans les lacs) et les matières en suspension (décantation dans les lacs).

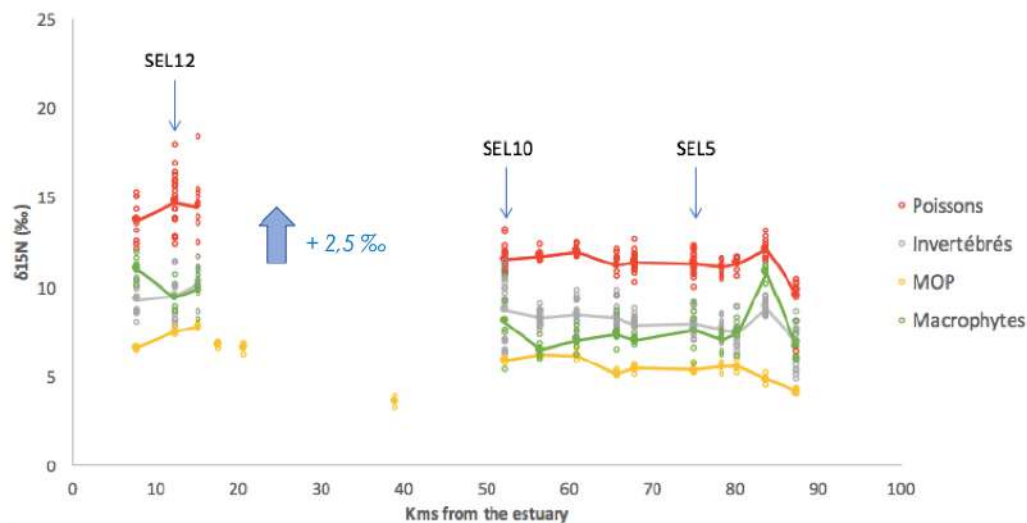
## Des discontinuités fonctionnelles sur l'axe amont-aval

Les variations de proportion des isotopes stables du carbone et de l'azote dans les tissus des organismes permettent de détecter l'origine de l'énergie qui alimente les réseaux trophiques, et de retracer les chaînes alimentaires en indiquant le niveau trophique des organismes (DeNiro et Epstein 1981; Person et Fry 1987). Ici, l'objectif est de fournir un état de référence isotopique des biocénoses aquatiques sur le cours principal de la Sélune, le long d'un profil allant de la source à la limite amont de l'estuaire, avant la remise en continuité par enlèvement des barrages. L'hypothèse est que la présence des barrages et de leurs lacs entraînent des variations des signatures isotopiques dans les organismes aquatiques, s'écartant alors de l'attendu théorique d'un continuum isotopique entre la source et l'estuaire. Deux campagnes d'échantillonnage (printemps 2014 et 2015) de poissons, invertébrés et plantes aquatiques ont été faites sur 13 stations du cours principal (voir Figure 1). Pour les poissons, des espèces benthiques invertivores, *a priori* peu mobiles dans le cours d'eau, ont été choisies : le chabot *Cottus gobio* et la loche *Barbatula barbatula*. Pour les invertébrés, des consommateurs primaires ont été retenus, soit des herbivores (Ephemerelellidae, Baetidae, Heptagenidae), soit des détritivores/omnivores (Limnephilidae, Gammaridae, Sericostomatidae) pour couvrir les deux principales voies d'assimilation de l'énergie (voie algale et voie détritique). Enfin des macrophytes du genre *Callitriche* ont été prélevées pour obtenir un signal isotopique venant des producteurs primaires. En 2016, des prélèvements complémentaires ont été faits sur les mêmes stations et 3 stations supplémentaires dans les lacs pour échantillonner la matière organique particulaire (MOP) en suspension par filtration d'eau. L'ensemble de ces échantillons a été préparé en laboratoire (nettoyage, lyophilisation, broyage et encapsulation en feuille d'étain), puis analysés en spectrométrie de masse par un laboratoire spécialisé (Sinlab, Université du New Brunswick, CAN).

D'une manière générale, les résultats isotopiques montrent une nette différence dans les rapports isotopiques du carbone et de l'azote entre les consommateurs primaires (invertébrés) et les consommateurs secondaires (poissons), ce qui est conforme aux attentes d'un fractionnement isotopique selon les niveaux trophiques. Ces différences le long des chaînes alimentaires sont assez similaires quelle que soit la station le long du gradient amont-aval. Pour le carbone, malgré de fortes variations des valeurs entre les stations de l'amont des barrages, les résultats indiquent une assez bonne stabilité des signaux isotopiques sur le gradient amont-aval. A noter une valeur très élevée dans le prélèvement de MOP dans le lac de Vezins au niveau du Pont de la République, suggérant une forte activité photosynthétique par le phytoplancton et l'incorporation de C atmosphérique dans les chaînes alimentaires aquatiques, comme mis en évidence dans d'autres cas (Roussel et al. 2014).

Pour l'azote en revanche, la discontinuité isotopique entre l'amont et l'aval des barrages est bien marquée (Figure 5), les valeurs étant systématiquement enrichies en isotope lourd à l'aval. Cela indique que les chaînes alimentaires à l'aval des barrages sont alimentées par des nutriments azotés d'une origine différente. Deux explications peuvent être avancées : 1- soit il s'agit d'un effet lié à la présence et au fonctionnement écologique des deux lacs sur les chaînes alimentaires de la rivière à leur aval, 2- soit cet enrichissement a une origine marine et serait le résultat d'une accumulation d'isotopes lourds de l'azote sous le barrage aval. S'il est pour l'instant difficile de choisir l'une ou l'autre des hypothèses, celle d'une discontinuité de propagation vers l'amont des nutriments d'origine marine est très plausible. Elle est étayée par une littérature abondante sur le rôle des espèces amphihalines dans la dispersion de nutriments depuis l'océan vers les écosystèmes aquatiques continentaux. Dans notre cas, l'hypothèse est renforcée par le nombre d'espèces diadromes actuellement bloquées au pied des barrages, qu'elles soient anadromes (le saumon Atlantique *Salmo salar*, la lamproie marine *Petromyzon marinus*, la grande alose *Alosa alosa*) ou catadromes (l'anguille européenne *Anguilla anguilla*).

Si l'hypothèse d'un blocage du transfert des nutriments marins vers les chaînes alimentaires des cours d'eau est la bonne, on devrait assister à une modification du signal isotopique de l'azote à l'amont des barrages après ouverture. Dans ce cas, le profil isotopique amont-aval, tel que mis au point dans ce travail, se révélera être un outil performant pour détecter et quantifier les discontinuités fonctionnelles océan-cours d'eau et leur restauration dans le contexte des fleuves côtiers où des barrages sont érigés.

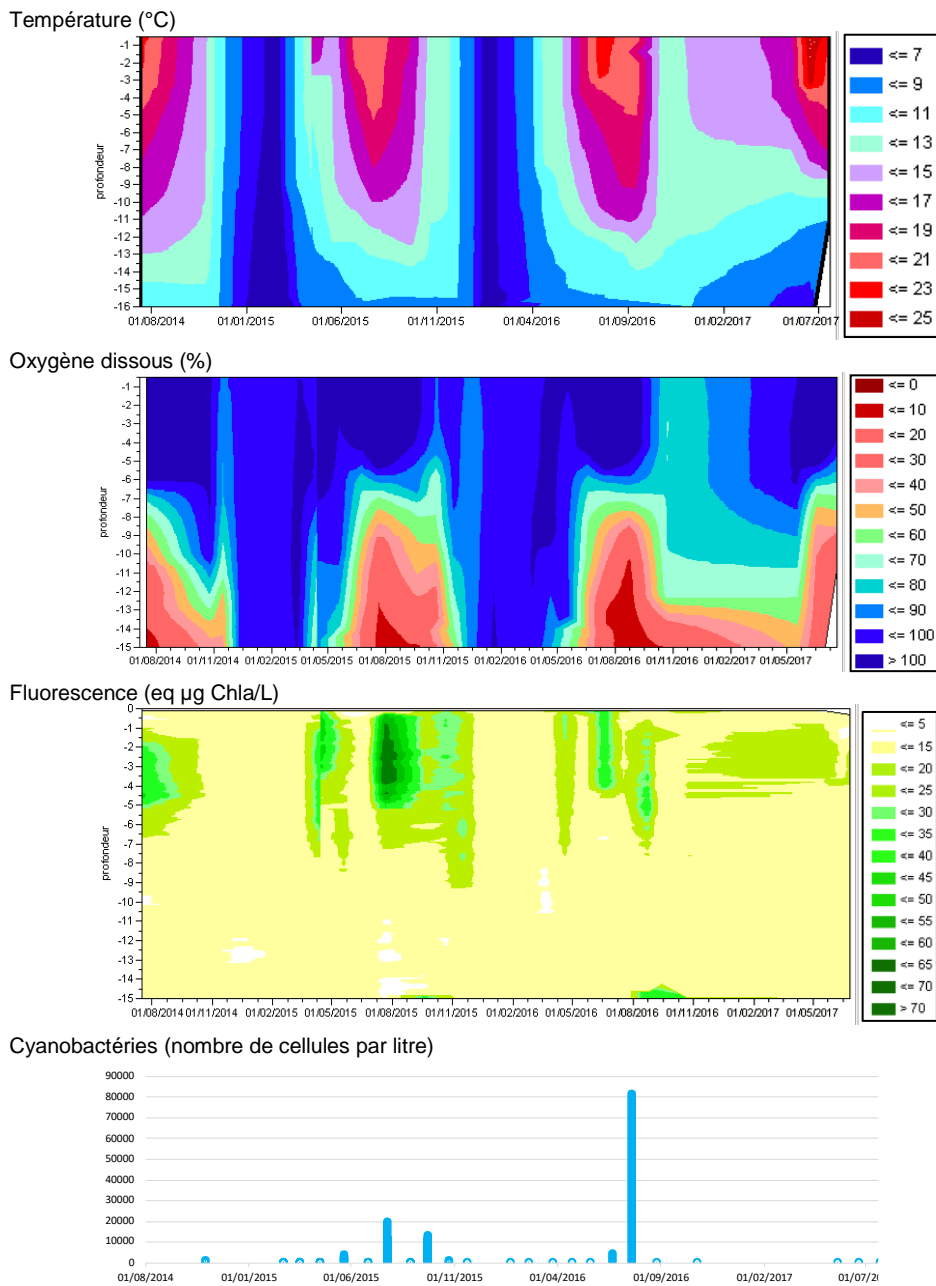


**Figure 5.** Proportion (‰, axes des ordonnées) en isotopes lourds de l'azote (notation conventionnelle  $\delta^{15}\text{N}$ ) dans les organismes aquatiques collectés sur le cours principal de la Sélune à différentes stations, depuis la limite de salure des eaux (notée KM zéro en abscisse) jusqu'à la source (KM 90). A l'emplacement des lacs de retenus (du kilomètre 15 au kilomètre 45) seuls des prélèvements de matière organique particulaire (MOP, en jaune) ont été faits. Les organismes aquatiques sont classés en 3 catégories, les producteurs primaires (plantes aquatiques, en vert), les invertébrés benthiques de régime herbivore ou détritivore (en gris) et les poissons qui les mangent (en rouge).

## Le fonctionnement des écosystèmes lacustres

Différents compartiments planctoniques et benthiques ont été étudiés entre 2014 et 2017 dans les stations SEL10, SEL19, SEL23, SEL25 et SEL12 de Saint-Hilaire (amont) à Pont de Signy (aval). Pour le phytoplancton, des prélèvements d'eau ont été réalisés, puis la biomasse a été mesurée *in situ* grâce à une sonde de fluorescence (Idronaut), et *ex situ* par des mesures de fluorescence au phytoPAM (Phyto Pulse Amplitude Modulated) et des dosages de chlorophylle *a* en laboratoire. Les mesures au phytoPAM ont permis de séparer trois principaux groupes taxonomiques (Chlorophytes, Cyanobactéries avec phycocyanine, Diatomées) en se basant sur leurs spectres d'absorption et d'émission aux longueurs d'ondes de la chlorophylle *a* et de pigments accessoires spécifiques. Les peuplements planctoniques ont aussi fait l'objet d'un comptage au microscope optique pour confirmation de la structure des communautés. Les densités d'espèces dans la colonne d'eau ont été exprimées en nombre de cellules par ml. La structure des communautés a été décrite d'un point de vue fonctionnel selon la méthodologie développée par Kruk et al. (2010). Enfin, la biomasse et la composition du zooplancton ont également été suivies à chaque station, à partir d'échantillons collectés grâce à une trappe Schindler-Patalas d'un volume de 30 L. Le zooplancton a été fixé à l'éthanol 50-70% puis identifié sous loupe binoculaire.

Pour l'étude du périphyton (partie photosynthétique), des substrats artificiels (lame de verre) ont été mis en place sur les différentes stations afin de pallier l'éventuelle absence de substrat à racler et de pouvoir standardiser et comparer les différentes stations. Après 1 mois d'immersion, les lames ont été retirées et raclées afin de mesurer leur poids sec sans cendre (proportion de matière organique), la chlorophylle *a* (lyophilisation puis méthode de Lorenzen, 1967) et d'étudier les communautés de diatomées (dénombrement, identification et guildes trophiques selon Rimet et Bouchez, 2012). Enfin, les communautés de macroinvertébrés aquatiques ont été étudiées au printemps et à l'automne, par la pose de substrats artificiels constitués par 3L de galets engagés. Après 1 mois de colonisation sur site, les échantillons ont été récoltés, triés puis déterminés au laboratoire. La biomasse des différents groupes fonctionnels (collecteur, mangeur de dépôts, filtreur, herbivore, prédateur, décomposeur, brouteur) a ensuite été calculée suivant Tachet et al. (2010).



**Figure 6.** Isoclines de température, d'oxygène et de fluorescence en fonction de la profondeur et de la saison dans les lacs de barrage (ici, le lac de Vezins). L'apparition des cyanobactéries est également indiquée.

Les deux lacs de barrage présentent des profondeurs variables (maximum 16m et 36 m pour La Roche qui Boit et Vezins, respectivement) mais la dynamique de stratification thermique saisonnière y est comparable. Cependant, la couche de mélange (épilimnion) est un peu moins profonde dans La Roche qui Boit. Cette stratification thermique saisonnière limite les échanges verticaux et entraîne une réduction des concentrations en oxygène dès la thermocline dans les eaux du métalimnion et de l'hypolimnion (voir Figure 6 pour le lac de Vezins). L'hypolimnion est dominé par les processus de décomposition de la matière organique et par la respiration des microorganismes, qui appauvrissent le milieu en oxygène alors que des sur-saturations en oxygène liées à la production primaire dans l'épilimnion sont possibles mais restent ponctuelles.

A l'échelle saisonnière, la biomasse totale de phytoplancton dans les barrages suit le rayonnement solaire, avec deux chutes de biomasse en juin et plus tardivement dans l'été liées à un fort développement du zooplancton consommateurs du phytoplancton et à son effondrement (cycle prédateur-proie). Une telle succession saisonnière est typique de plans d'eau profonds mésotrophes à eutrophes. De plus, les forts apports en nutriment par le fleuve à l'amont des lacs et les courts temps de transit de l'eau dans les lacs tendent à rompre la dépendance du phytoplancton vis-à-vis des nutriments profonds issus de la minéralisation de la matière organique dans l'hypolimnion. L'essentiel de la production de phytoplancton se trouve donc dans la couche de mélange au-dessus de la thermocline, ce qui est également symptomatique du statut mésoeutrophe à eutrophe de ces lacs.

La plus forte productivité du phytoplancton en surface indique aussi que la lumière est un facteur limitant de la photosynthèse. Les espèces dominantes du phytoplancton sont caractéristiques de milieux turbides mélangés, par exemple *Limnothrix*, *Planktothrix* et *Pseudanabaena*. Ainsi, la biomasse de phytoplancton dans les barrages est contrôlée par la lumière disponible dans l'épilimnion, par la disponibilité en phosphates et enfin par la biomasse de zooplancton, principal consommateur du phytoplancton. A noter que l'année 2016 a été marquée par un bloom de *Planktothrix agardhii* et *Aphanizomenon gracile* dans une moindre mesure, alors qu'en 2015 un bloom de *Microcystis* fort mais localisé a été observé à l'extrême amont du lac de Vezins (Figure 6). Cette zone est particulièrement sensible à l'apparition de cyanobactéries potentiellement toxiques du fait de l'éclaircissement rapide des eaux par décantation et l'arrivée de nutriment en provenance du fleuve ; l'apparition de blooms estivaux y est donc récurrente.

## Des communautés différentes entre les lacs et le fleuve

Les communautés autotrophes sont essentiellement phytoplanctoniques et situées dans la colonne d'eau des lacs, par contre les microorganismes autotrophes en rivière se développent sur le substrat. En s'appuyant sur la morphologie du phytoplancton (Kruk et al. 2010), les guildes écologiques des diatomées (Rimet et Bouchez 2012), et les guildes trophiques des invertébrés (Tachet et al. 2010), la structure fonctionnelle des communautés aquatiques en lac et sur le fleuve (amont et aval des lacs) a été comparée pendant deux années (2015 et 2016) et à deux saisons (printemps et automne).

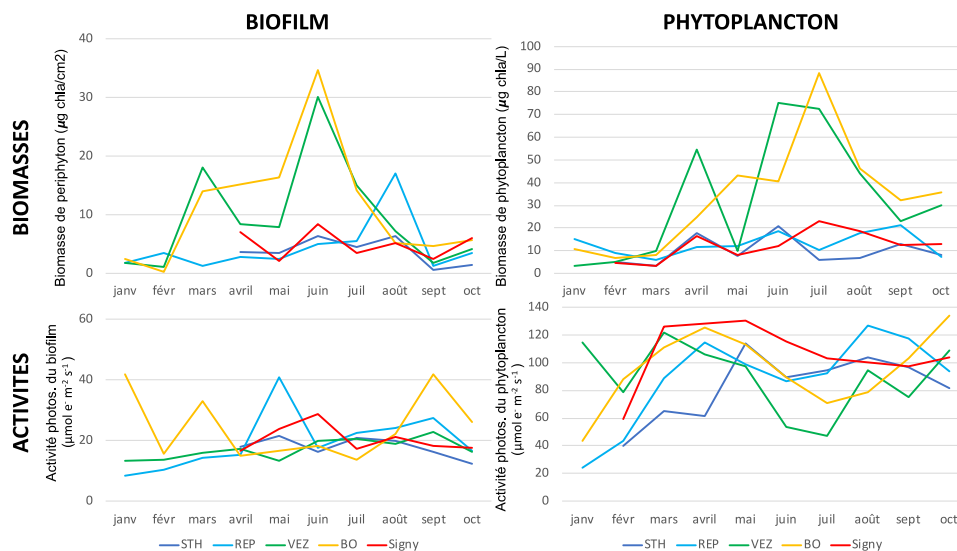
D'une manière générale, les communautés de microorganismes ayant un cycle de vie court peuvent s'ajuster rapidement aux variations interannuelles des conditions météorologiques. Au printemps, les communautés phytoplanctoniques sont caractérisées par des espèces de petite taille dans les sites amont (SEL 10 et SEL19), de grande taille dans les lacs (SEL 25 et SEL23), et à leur aval (SEL 12) dans une moindre mesure. Cela peut signaler des échappements de phytoplancton des lacs, ce qui semble également s'observer à l'automne. Les diatomées benthiques suivent une même tendance à l'augmentation de taille dans les lacs, mais ces communautés sont très différentes d'une année à l'autre, montrant ainsi leur plus grande sensibilité aux variations interannuelles des conditions hydrologiques et météorologiques printanières. D'une manière générale, les microorganismes autotrophes constituent des communautés très différentes entre printemps et automne : les espèces flagellées et taille moyenne (principalement des algues vertes) dominent aux sites amont (SEL10 et SEL19) alors que les diatomées non fixées dominent plus généralement dans les lacs (SEL23 et SEL25) au printemps. On remarque aussi qu'à l'automne, les structures fonctionnelles des diatomées dans le lac aval se rapprochent plus de celles décrites sur les sites en amont. En effet, la déstratification automnale de la masse d'eau, avec son régime turbulent, est sans doute plus favorable aux diatomées à l'automne.

Les communautés de macroinvertébrés sont très proches en 2015 et 2016, mais une forte différence est observée entre stations des lacs (SEL25 et SEL23) et les stations du fleuve (SEL10, SEL12, SEL19) quelle que soit la saison. Au printemps, les brouteurs de biofilms et des décomposeurs dominent dans le fleuve à l'amont et à l'aval des barrages, alors que les filtreurs dominent dans les lacs. A l'automne, les brouteurs restent bien représentés, mais les filtreurs remplacent les décomposeurs dans les stations du fleuve, alors que les mangeurs de dépôt remplacent les filtreurs dans les lacs. Ces variations saisonnières s'expliquent par l'adéquation simple entre les consommateurs invertébrés et les ressources basales. En effet, la diminution des décomposeurs dans le fleuve à l'automne est à rapprocher de l'absence des matières organiques grossières, les nouvelles litières de feuille d'arbre n'offrant pas encore une ressource suffisante. Dans les lacs, la mortalité et sédimentation massive du phytoplancton à l'automne a déplacé cette ressource trophique de la colonne d'eau vers le substrat, favorisant ainsi les mangeurs de dépôts.

Une fois les barrages retirés, la rétention du phosphore et des matières en suspension va disparaître et une eau riche en nutriments mais plus limitée en lumière va couler à l'emplacement des lacs actuels et à leur aval. Sur les futures zones dénoyées et euphotiques, il est attendu que le biofilm se redéveloppe, favorise la fixation du phosphore libéré par l'arasement, et alimente de manière préférentielle les réseaux trophiques lotiques *via* la voie algale (invertébrés de type brouteurs / racleurs). L'arasement des barrages va aussi entraîner l'évacuation des cyanobactéries de la masse d'eau et pour partie celles présentes dans le sédiment (cellules de dormance). Avec les nouvelles conditions hydrologiques (temps de résidence beaucoup plus faible, turbidité plus fortes et conditions turbulentes), le développement des cyanobactéries comme *Microcystis* reste peu probable. Certaines espèces déjà présentes et caractéristiques de milieux turbides et turbulents, comme *Planktothrix agardhii*, pourraient par contre se maintenir, mais les conditions globales seront peu favorables à l'apparition de bloom.

## Quelles différences pour l'écosystème lotique à l'aval des lacs actuels ?

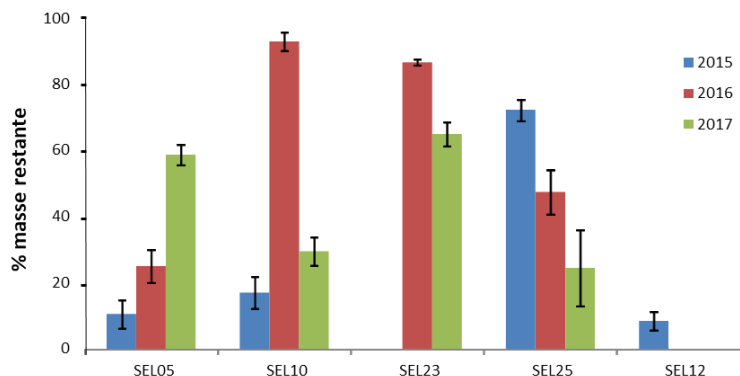
La structure des communautés des microorganismes autotrophes et des macroinvertébrés s'avère difficile à interpréter pour identifier des différences de fonctionnement entre les stations lotiques à l'amont et à l'aval immédiat des lacs. Il convient donc de regarder si les biomasses produites d'une part, et d'autre part l'activité photosynthétique (voie algale) et la dégradation de la matière organique (voie détritique), sont plus sensibles. Les biomasses du biofilm et du phytoplancton sont élevées dans les lacs (Figure 7), mais les différences constatées entre les stations lotiques de l'amont et de l'aval des lacs actuels restent sans tendance nette. De-même, les activités photosynthétiques sont variables selon les saisons, mais elles apparaissent assez peu contrastées entre les stations lotiques et lentiques. On remarque toutefois qu'au printemps, l'activité photosynthétique du phytoplancton est plus élevée à l'aval des lacs (Signy, SEL 12) qu'à leur amont (SEL10 et SEL5, Figure 7). On note enfin que les relevés de plantes aquatiques (espèces, recouvrement) en 2015 et 2016 ne donnent pas de différences majeures sur la structure de ces communautés à l'amont et à l'aval des lacs actuels.



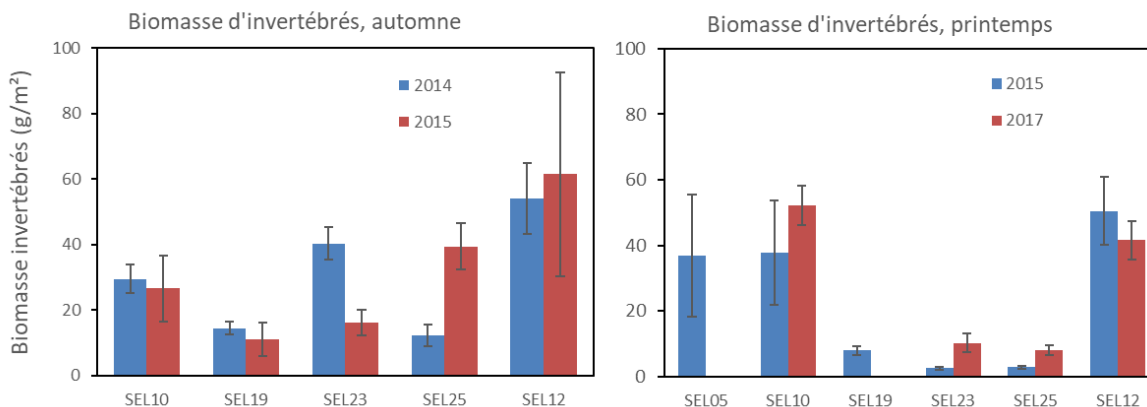
**Figure 7.** Biomasses et activités photosynthétiques du biofilm (périphyton) et du phytoplancton sur le cours principal de la Sélune. STH (SEL10): Saint-Hilaire ; REP (SEL19): station au niveau du pont de la République ; VEZ (SEL23): barrage de Vezins ; BO (SEL25): barrage de Roche-qui-Boit ; Signy (SEL12) : Pont de Signy.

L'activité de dégradation de la matière organique a été estimée par la méthode des sacs à litière (Piscart et al. 2009). Quatre sacs grillagés (maille 5mm, dimension 12cm de côté) et rempli au préalable d'une masse connue de feuilles d'arbre séchées sont introduits dans l'eau à chaque station. Après 30 jours d'immersion, ces sacs sont retirés et la matière sèche restante est pesée. Si les résultats de dégradation des litières sont très variables d'une année à l'autre (Figure 8), cette activité est néanmoins systématiquement plus forte à l'aval des barrages. De plus, les biomasses d'invertébrés, exprimées en gramme de matière sèche par m<sup>2</sup>, sont relativement équivalents à l'aval et à l'amont des barrages au printemps, mais 2 à 3 fois plus fortes à l'aval des barrages à l'automne (Figure 9). L'ensemble de ces

résultats signale que la station à l'aval des lacs présente des conditions plus favorables aux producteurs primaires (forte activité du phytoplancton), aux macroinvertébrés benthiques (plus forte abondance en moyenne) et à la dégradation de la litière. S'il peut s'agir ici d'un fonctionnement normal, il faut voir toutefois qu'il s'agit d'une situation artificielle liée à la présence des barrages, les stations situées à l'amont des barrages ne présentant pas ces mêmes caractéristiques de fonctionnement.



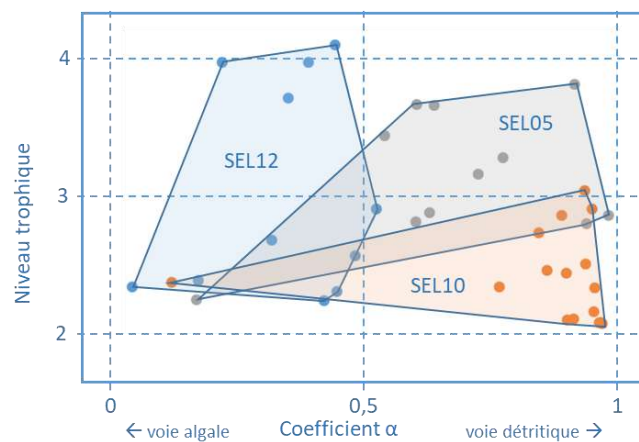
**Figure 8.** Activité de dégradation de la matière organique, exprimée en % de masse restante (moyenne +/- erreur standard) par rapport à la masse initialement introduite dans les sacs à litière. SEL10 Saint-Hilaire, SEL19 pont de la République, SEL23 lac de Vezins, SEL25 lac de Roche-qui-Boit, SEL12 Pont de Signy.



**Figure 9.** Biomasse de macroinvertébrés sur la Sélune, exprimée en g de matière sèche par m<sup>2</sup> (moyenne +/- erreur standard). SEL10 Saint-Hilaire, SEL19 pont de la République, SEL23 lac de Vezins, SEL25 lac de Roche-qui-Boit, SEL12 Pont de Signy.

L'approche par les isotopes stables confirme la singularité du fonctionnement de l'écosystème à l'aval des barrages actuels. Elle permet notamment d'identifier l'origine du carbone, l'élément constitutif majoritaire dans le vivant, qui alimente les chaînes alimentaires. En effet, les producteurs primaires aquatiques (phytoplanctons, diatomées ou macrophytes) fixent par la photosynthèse le carbone inorganique dissous dans l'eau et dont les ratios isotopiques sont différents de ceux de la matière organique détritique. De fait, ces producteurs primaires, ainsi que leurs consommateurs de la voie algale, ont des signatures isotopiques sur le carbone qui diffèrent des consommateurs de matière organique de la voie détritique. A partir des prélèvements d'organismes aquatiques réalisés sur le cours principal

de la Sélune, les valeurs isotopiques du carbone et de l'azote permettent de calculer les niveaux trophiques et l'affinité de chaque organisme à la voie détritique ou à la voie algale. La méthode proposée par Quezada-Romegialli et al. (2018), qui s'appuie sur des modèles de mélange, a été mise en œuvre pour calculer la contribution relative du carbone d'origine algale ou détritique à chaque organisme aquatique. Pour cela, il convient de choisir des taxons consommateurs primaires consommant exclusivement du carbone algal ou détritique, qui servent à caler les sources basales et calculer les niveaux trophiques. Nous avons considéré les invertébrés brouteurs des genres *Serratella* et *Baetis* comme représentants de la voie algale, à l'opposé des genres appartenant à la famille des *Limnephilidae* comme représentants de la voie détritique. En considérant un fractionnement isotopique de 3,4‰  $\delta^{15}\text{N}$  sur l'azote et 0,4‰  $\delta^{13}\text{C}$  sur le carbone entre chaque niveau trophique selon Post (2002), les modèles révèlent que la voie algale est prépondérante dans le réseau trophique à l'aval des barrages (Pont de Signy) contrairement à l'amont (Figure 10). Les lacs de barrage retiennent une partie des nutriments, ils retiennent aussi les sédiments naturellement en transit vers l'aval. Ainsi privé de cette ressource détritique, les stations aval où l'eau décantée est plus claire semble plus propices au développement des producteurs primaires et donc à la voie algale.

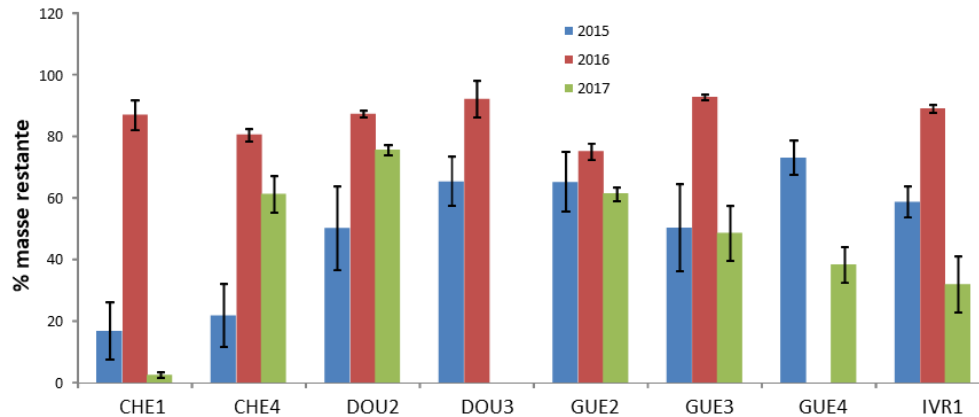


**Figure 10.** Représentation schématique des organismes aquatiques dans un plan bi-varié comprenant le niveau trophique (en ordonnée) et l'origine du carbone (en abscisse, coefficient  $\alpha$ ) dans les chaînes alimentaires de la Sélune. Chaque point représente la position moyenne d'une espèce dans son réseau trophique. SEL12 Pont de Signy ; voir Figure 1 pour le positionnement des stations.

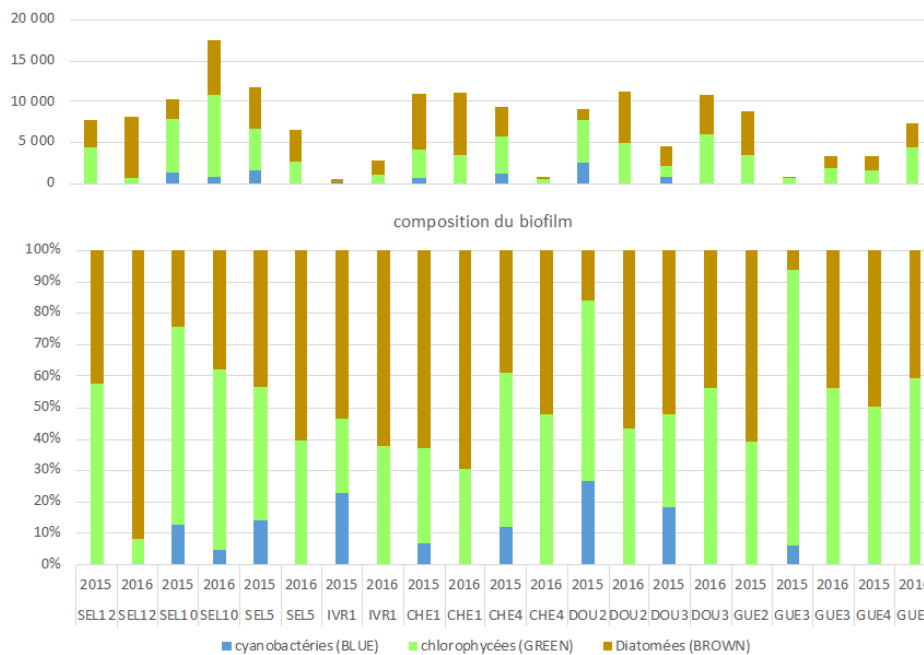
## Quelles différences de fonctionnement sur les affluents par rapport au fleuve ?

Suivant le schéma théorique classique, la voie détritique est prépondérante dans les cours d'eau de petite taille situés en tête de bassin versant. Les apports de matière organique par la chute des feuilles d'arbre y sont élevés alors que l'ombrage limite le développement des producteurs primaires. D'une manière générale, la dégradation de la litière de feuilles d'arbre est très variable d'une année à l'autre et d'une station à l'autre dans notre étude (Figure 11). Cependant, cette activité n'apparaît pas plus forte dans les affluents que sur les stations lotiques du cours principal de la Sélune. De même, les biomasses de biofilm estimées à partir de l'activité photosynthétique semblent très dépendantes des conditions climatiques vécues les jours précédents les mesures (ensoleillement, température et pluie). Mais contrairement aux attentes, les biomasses de biofilm sont globalement comparables entre le cours principal de la Sélune et ses affluents (Figure 12). Certes l'affluent Ivret présente les biomasses les plus faibles, ce qui est probablement en lien avec la présence d'une ripisylve dense et un ombrage fort, alors que cet affluent se distingue par un fort recouvrement en bryophytes. Les biomasses de biofilm estimées sur les affluents Douenne et Chenilly sont aussi fortes que sur les stations lotiques de la Sélune, et sans lien évident avec les concentrations en nutriments azotés ou phosphorés, ni avec les recouvrements en macrophytes qu'on y observe. Les diatomées dominent la biomasse, avec quelques espèces de Chlorophycées. Des signaux de fluorescence de cyanobactéries sont même observés en affluents, néanmoins ils n'ont pu être validés par les observations directes au microscope. Autre résultat significatif, les biomasses d'invertébrés (tous groupes trophiques confondus) rapportées au mètre carré

de surface de substrat, sont variables mais globalement comparables entre les affluents et les stations lotiques du cours principal de la Sélune (Figure 13), ce qui signifie que la production secondaire y semble équivalente en moyenne. Ainsi, la production primaire et la production secondaire semblent au moins aussi fortes dans les affluents que sur le cours principal de la Sélune à l'amont des barrages.



**Figure 11.** Activité de dégradation de la matière organique, exprimée en % de masse restante (moyenne +/- erreur standard) par rapport à la masse initialement introduite dans les sacs à litière sur les affluents.

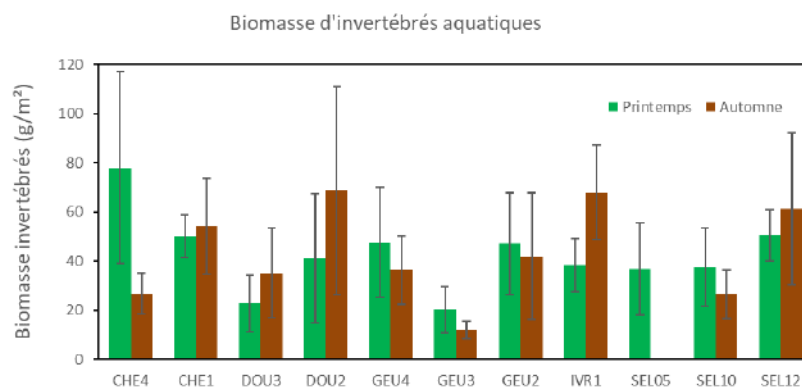


**Figure 12.** Composition du biofilm (périphyton) dans les stations lotiques selon les cyanobactéries synthétisant de la phycocyanine (bleu), les algues vertes (vert) et les diatomées et chrysophycées (marron), mesurée par fluorescence des différents pigments photosynthétiques au phytoPAM. Haut : biomasse cumulée (fluorescence) ; bas : proportion relative.

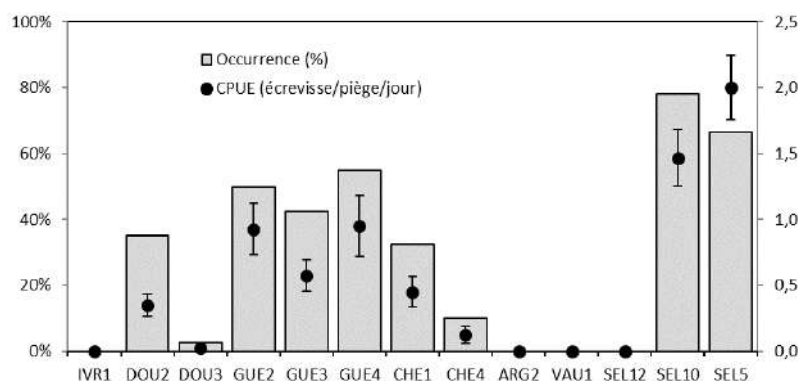
Pour ce qui concerne l'écrevisse du Pacifique, les inventaires ont été faits à l'aide de pièges grillagés à double entrée (50 x 29 x 19 cm, ouverture de 4 cm, sans appât) qui ont été déployés au printemps 2015 à raison de 30 à 40 pièges par station pendant 24h. Les plus fortes abondances (en nombre d'écrevisses par piège et par 24h) ont été enregistrées sur les stations du cours principal situées à l'amont des lacs de barrage (Figure 14). Certains affluents comme Gueuche, Douenne et Chenilly sont



déjà bien colonisés, alors que d'autres comme Ivret, Argonce et Vaux Roux en sont quasiment dépourvus. Ces variations sont en partie expliquées par la distribution plus large de cette espèce invasive sur le bassin versant (voir plus loin dans ce rapport). On remarque qu'aucune capture d'écrevisse n'a été réalisée sur la station aval des barrages (Pont de Signy, SEL12), ce qui pourrait s'expliquer par une forte pression de prédation exercée par l'anguille sur l'écrevisse. En effet, l'anguille n'est présente qu'à l'aval des barrages, avec des biomasses fortes au Pont de Signy (SEL12) et aussi sur l'Ivret (Figure 14).



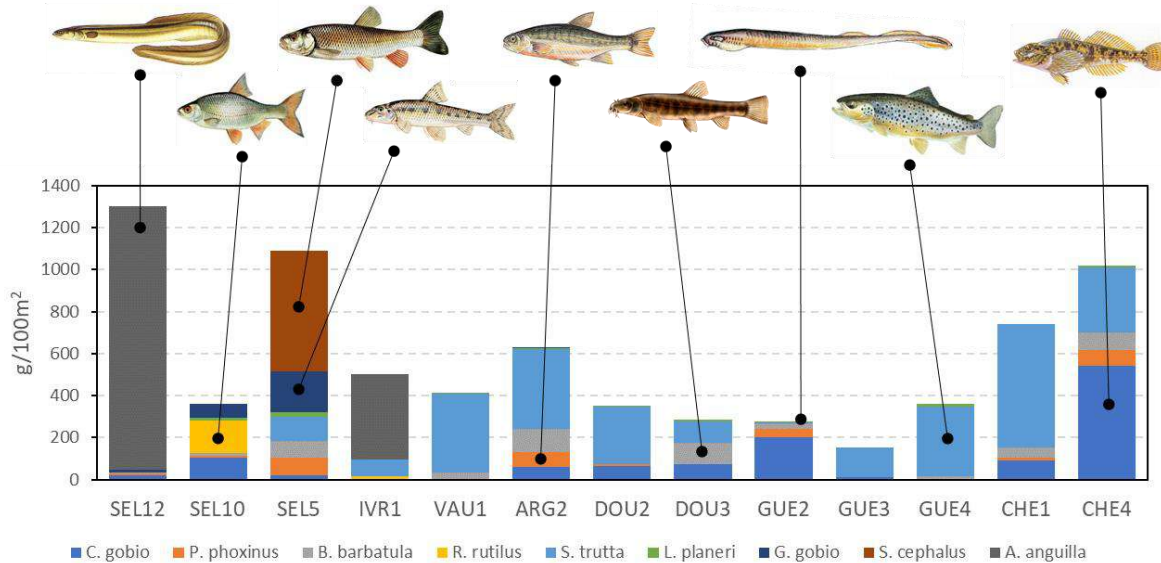
**Figure 13.** Biomasses de macroinvertébrés dans les stations lotiques des affluents de la Sélune et sur son cours principal, exprimées en g de matière sèche par m<sup>2</sup> (moyenne +/- erreur standard). Voir Figure 1 pour le libellé et le positionnement des stations.



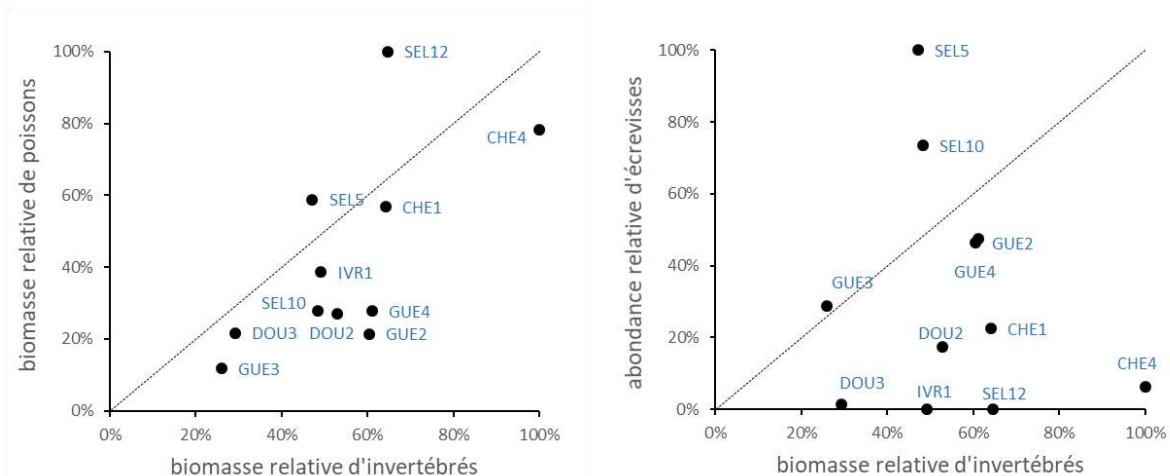
**Figure 14.** Occurrence (% de piège contenant au moins une écrevisse) et abondance (capture par unité d'effort CPUE, exprimée en nombre d'individus par piège et par 24h) de l'écrevisse du Pacifique sur les stations lotiques du cours principal de la Sélune et affluents. Les barres verticales représentent les écarts-types autour des moyennes.

Les communautés de poissons ont été décrites à partir d'inventaires par pêche électrique, réalisés au printemps et en début d'été, 2015 et en 2016. Sur les stations lotiques du cours principal, la méthode des EPA (échantillonnage ponctuel d'abondance) a été retenue. Il s'agit d'appliquer dans l'eau sur chaque station, en 20 points successifs, l'électricité pour tétaniser les poissons présents et les attraper à l'épuisette. Considérant qu'environ 5m<sup>2</sup> sont échantillonnés à chaque point, une surface de 100 m<sup>2</sup> est ainsi prospectée sur la station. Il faut noter que cette méthode est mal adaptée pour capturer les poissons de grande taille, comme les subadultes ou adultes d'anguilles et chevesnes dans notre étude. Elle n'est pas adaptée non plus pour caractériser les abondances de juvéniles de lamproie, qui sont de fait largement sous-estimées dans nos résultats. Comme attendu, aucune espèce diadrome n'est relevée sur ces stations à l'amont des barrages, alors que les biomasses d'anguille sont très fortes à l'aval des barrages (Figure 15). De plus, la biomasse de poissons est généralement très basse à Saint-Hilaire du Harcouët (SEL10), probablement en lien avec des perturbations environnementales liées à

la ville (la station est située dans le bourg). Conformément aux attentes, les affluents abritent des communautés de poissons dominées par 4 espèces, le chabot, la loche, la truite et la lamproie de planer, et les biomasses de poissons sont assez variables selon les stations (Figure 15). D'une manière générale, on note que les stations où se trouvent les plus fortes biomasses d'invertébrés au printemps sont globalement celles où les biomasses de poissons sont les plus élevées (Figure 16). Ce résultat est cohérent avec l'attendue théorique de transfert de biomasse dans les réseaux trophiques, les stations où la production secondaire est meilleure hébergent de plus fortes biomasses de poissons. Par ailleurs, on ne trouve pas de relation entre la biomasse d'invertébrés benthiques et l'abondance des écrevisses (Figure 16), ni entre biomasse de poissons et abondance d'écrevisses.



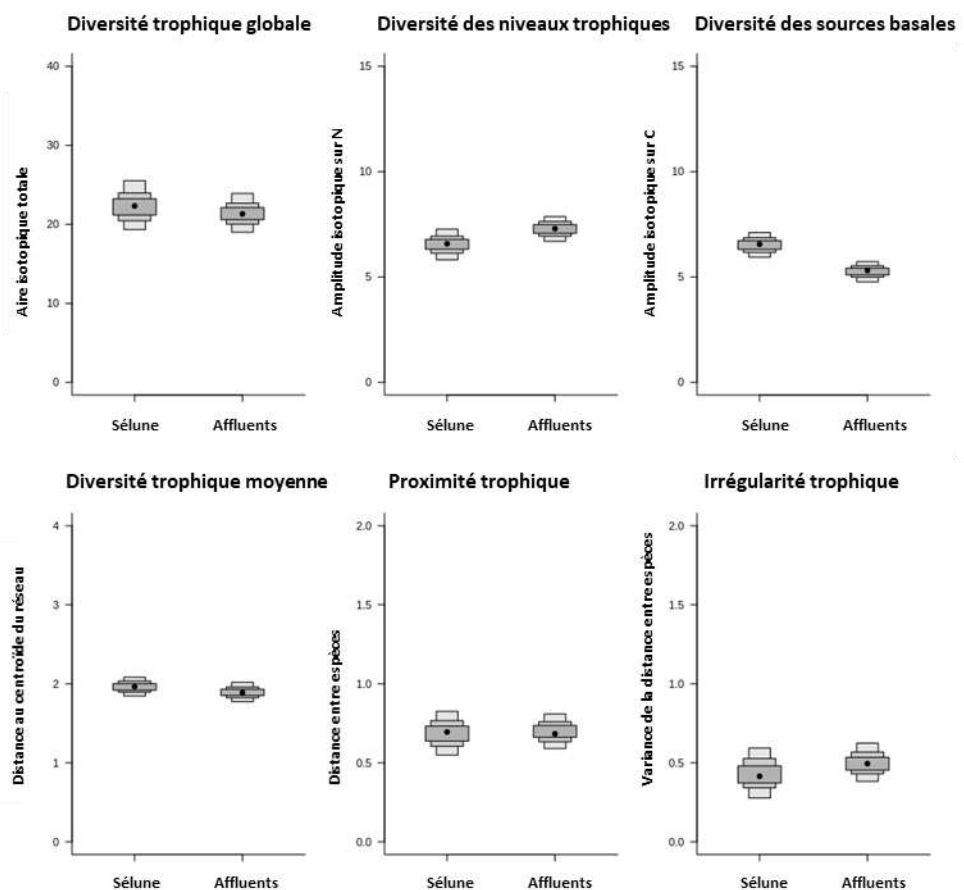
**Figure 15.** Biomasse (exprimée en g pour 100m<sup>2</sup> de cours d'eau) des différentes espèces de poissons sur les stations lotiques du cours principal de la Sélune et de ses affluents. Les barres verticales représentent les écarts-types autour des moyennes.



**Figure 16.** Répartition des biomasses d'invertébrés, de poissons et des abondances relatives d'écrevisses invasives selon les stations sur la Sélune et ses affluents, exprimées en valeur relative (% par rapport à la station la plus forte). A gauche : invertébrés benthiques et poissons ; à droite : invertébrés benthiques et écrevisses invasives. La droite 1:1 est indiquée.

A partir des ratios isotopiques obtenus pour chaque prélèvement animal (invertébré ou poisson) par espèce, un travail sur la géométrie des réseaux trophiques a été entrepris. Ce type d'analyse

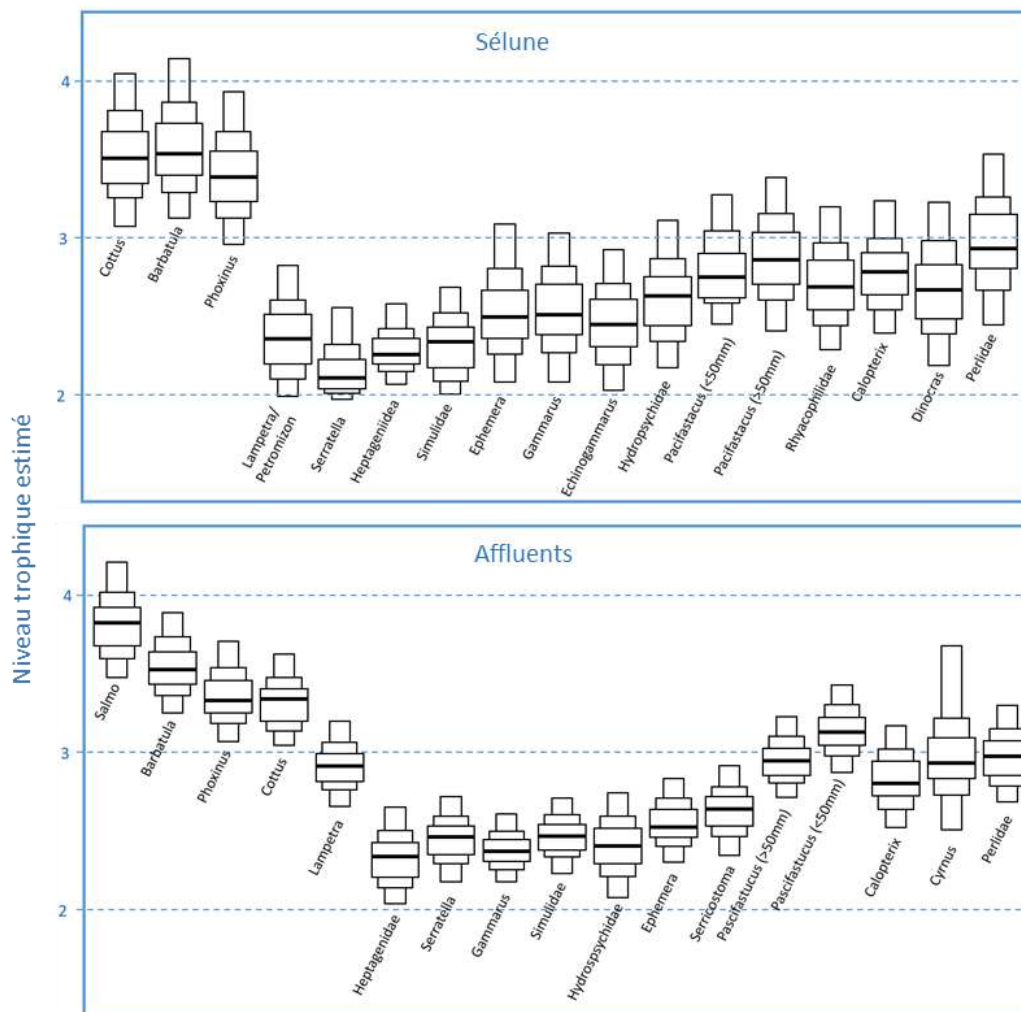
classiquement réalisée part du postulat qu'une forte variabilité isotopique révèle une plus grande diversité trophique pour les consommateurs. Ce type d'approche a été utilisée pour comparer les réseaux trophiques du cours principal de la Sélune et de ses affluents, en utilisant les méthodes de simulations proposées par Jackson et al. (2011), chaque station étant traitée indépendamment. Les résultats montrent que la diversité des sources basales (amplitude isotopique sur le carbone) est plus petite en affluent que dans le cours principal du fleuve (Figure 17). Dans le même temps, l'amplitude isotopique sur l'azote est significativement plus grande en affluent, suggérant des chaînes alimentaires plus longues. Cependant, ce résultat est très probablement faussé car les taxons piscivores de grande taille et en sommet de chaîne alimentaire n'ont pas été échantillonnés dans le fleuve lui-même. Ces différences d'amplitude isotopique sur le carbone et l'azote se compensant, la diversité trophique globale apparaît identique entre le cours principal et les affluents (Figure 17). Là encore, cette représentation est biaisée par la sous-représentation des niveaux trophiques élevés dans le fleuve. La diversité trophique moyenne révèle un léger resserrement des niches trophiques des espèces dans les affluents par rapport au cours principal. Enfin, la position des niches trophiques et leur répartition entre les espèces dans le réseau trophique ne diffèrent pas de manière significative (Figure 17). Ainsi, on peut conclure que les différences d'architecture du réseau trophique sont minimales entre la Sélune et ses affluents, même si la diversité des sources basales est plus grande dans le fleuve.



**Figure 17.** Métriques isotopiques évaluant les différences de densité et d'étalement des valeurs isotopiques (C et N) des consommateurs du réseau trophique dans le cours principal de la Sélune ou dans ses affluents.

Les niveaux trophiques des principales espèces ont été estimés par des modèles de simulation selon la méthode proposée par Quezada-Romegialli et al. (2018), en appliquant la démarche et les réglages présentés précédemment et en considérant que les consommateurs peuvent s'alimenter à la fois sur la chaîne algale et détritique (en mélange). Dans ce cas, le niveau trophique monte en moyenne jusqu'à

3.6 dans le fleuve et 3.8 en affluent (Figure 18). Comme déjà discuté, cette différence est liée à l'échantillonnage de la truite commune dans les affluents, espèce connue pour sa tendance à la piscivorie, alors qu'il manque clairement certaines espèces réputées piscivores dans le fleuve (notamment l'anguille) pour avoir une réelle vision de la longueur des chaînes alimentaires. Par ailleurs, sur ces estimations, on retrouve bien les niveaux trophiques attendus pour les taxons invertébrés réputés omnivores (comme par ex. *Gammaridae*) ou prédateurs (*Perlidae*), confortant la démarche et les modèles réalisés (Figure 18).



**Figure 18.** Niveaux trophiques des organismes aquatiques, invertébrés et poissons, sur le cours principal du fleuve et dans les affluents (toutes stations confondues), estimés à partir des isotopes stables du carbone et de l'azote. Pour chaque groupe, les valeurs sont calculées par modèles de mélange ; les valeurs présentées correspondent à la médiane, puis 50%, 75% et 95% des distributions simulées.

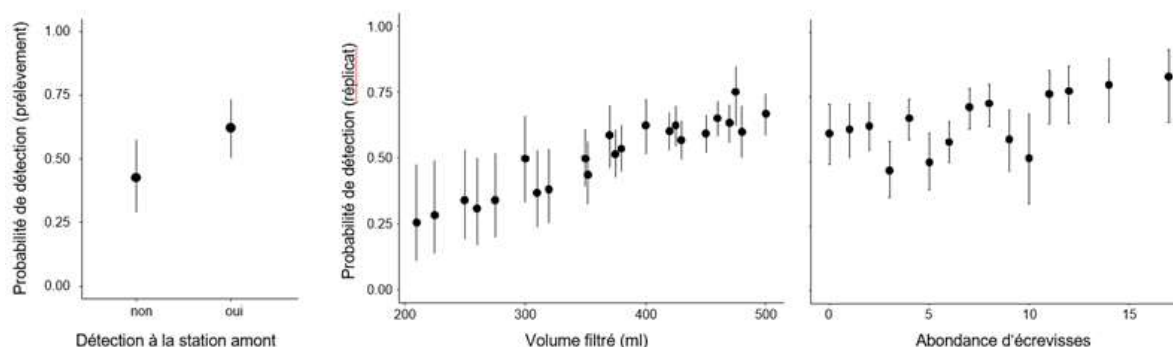
La principale différence observée concerne les jeunes stades de lamproies, qui sont omnivores plus que consommateurs primaires comme on le suppose généralement. Cette tendance à se nourrir sur des proies animales paraît d'autant plus nette dans les affluents que nous avons échantillonnés. De la même manière, les écrevisses du Pacifique paraissent s'alimenter plus nettement sur des proies animales dans les affluents, où leur niveau trophique est très similaire à celui d'autres invertébrés réputés prédateurs (Figure 18). Bien que déjà observé dans d'autres cas d'étude chez les écrevisses, ceci suggère que l'écrevisse du Pacifique puisse exercer une pression de prédation sur la communauté de macroinvertébrés, particulièrement dans les ruisseaux qu'elle colonise, sans toutefois qu'un effet sur les biomasses d'invertébrés ne soit détecté. Ces résultats amènent à une investigation plus en

profondeur des effets de cette espèce invasive sur les réseaux trophiques dans les écosystèmes récepteurs.

## L'analyse de l'ADN dans l'eau permet-elle de détecter l'écrevisse invasive ?

Pour mettre à jour la distribution de l'écrevisse du Pacifique et des autres espèces d'écrevisse sur le bassin versant, un premier travail de collecte d'informations existantes a été entrepris, en s'appuyant sur les différents inventaires des Fédérations de Pêche, de l'AFB et les observations ponctuelles retrouvées dans les rapports consultés. En parallèle, des pièges ont été posés sur les 16 stations de l'étude et sur un maillage d'affluents beaucoup plus serré (même mode opératoire qu'expliqué précédemment), permettant d'approcher au mieux la distribution sur le bassin versant (voir Figure 2). Enfin, un travail spécifique a été réalisé pour la mise au point d'une méthode de détection de l'écrevisse invasive par recherche d'ADN dans l'eau, domaine en pleine évolution actuellement mais pour lequel subsistent des difficultés techniques, notamment pour les invertébrés (Roussel et al. 2015).

En absence d'étude publiée sur la détection de l'écrevisse du Pacifique par ADN environnemental au démarrage du projet, un couple d'amorces et une sonde spécifiques à cette espèce ont été mis au point, puis un protocole d'échantillonnage d'eau *in situ* a été conçu pour évaluer trois paramètres importants : la probabilité de détection (quelle est la chance de détecter l'espèce quand elle est présente ?), l'effet de la dévalaison (la présence d'écrevisse à l'amont influence-t-elle sa probabilité de détection sur la station ?), l'influence des confluences (la dilution aux confluence influence-t-elle la probabilité de détection ?). L'échantillonnage d'ADN environnemental a été couplé au dénombrement des écrevisses par piégeage et mesure du débit, en 2015 et 2016, en multipliant les prélèvements de l'aval vers l'amont sur chaque station, et en encadrant les confluences. L'affluent Vau Roux qui abrite par ailleurs l'espèce *Austroptamobius pallipes* (écrevisse à pattes blanches, classée vulnérable sur la liste de l'UICN) a été échantillonné. Chaque prélèvement d'eau (0.5L) a été réalisé à l'aide de matériel décontaminé aux UV, puis filtré au laboratoire sur des membranes de cellulose 0,45 µm de maille (SARTORIUS : 13006-47-N), avant extraction de l'ADN (CTAB 2%) selon un protocole adapté de Vallet et al. (2017). Il n'a pas toujours été possible de filtrer 500ml pour chaque prélèvement du fait des matières en suspension ; le volume filtré a donc été noté pour pouvoir tester son influence sur la probabilité de détection. Des PCR quantitatives ont ensuite été réalisées sur ces échantillons, en présence de témoins positifs (gamme de dilution d'ADN de l'écrevisse) et négatifs. Le logiciel CFX manager 3.0 est utilisé pour la visualisation des qPCR réalisées et pour l'obtention des mesures de fluorescence.



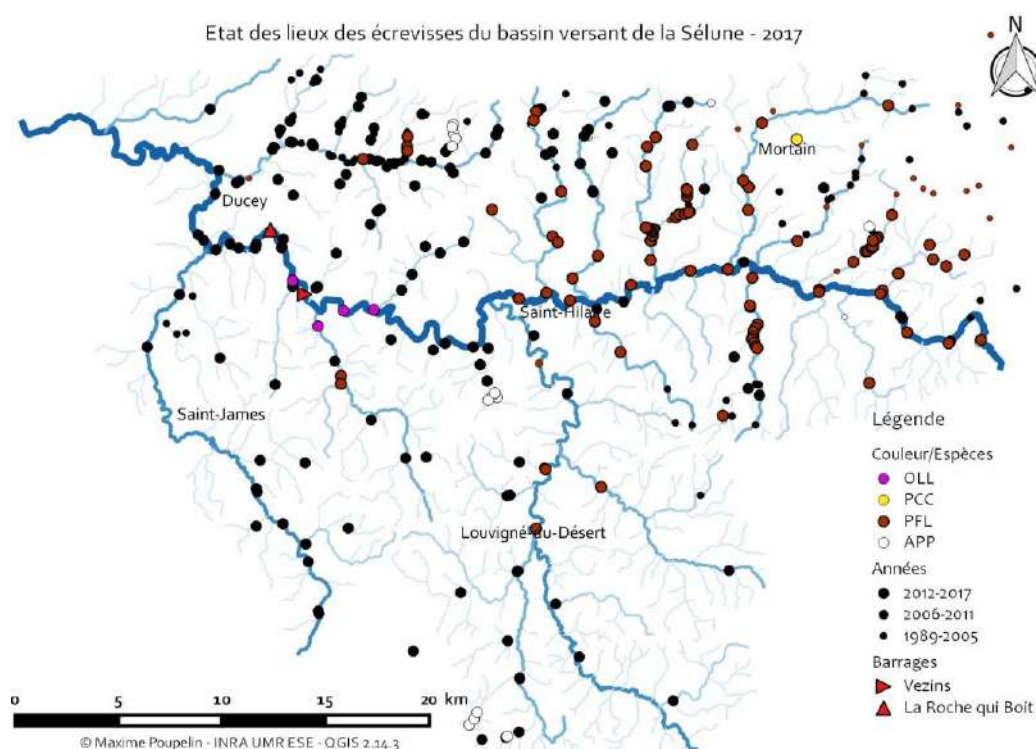
**Figure 19.** Relations entre la probabilité que l'écrevisse du Pacifique soit détectée dans un prélèvement d'eau et sa détection à la station située en amont (gauche), la probabilité que l'écrevisse soit détectée dans un réplica de PCR et le volume d'eau filtré (milieu), la probabilité que l'écrevisse du Pacifique soit détectée dans un réplica de PCR et l'abondance d'écrevisses sur la station.

Une particularité des données générées par l'analyse de l'ADN environnemental dans le cadre de plans d'échantillonnage visant à estimer la probabilité de détection est d'emboîter différents niveaux de réplifications : dans notre cas par exemple, nous avons en 2015 échantillonné 35 stations sur le bassin versant de la Sélune, chaque station était représentée par quatre prélèvements, et chaque prélèvement a conduit à une extraction d'ADN qui a ensuite été amplifiée trois fois. Ainsi, les données ont été analysées dans le cadre dédié de modèles d'occupation multi-échelles selon la méthode proposée par Dorazio et Erickson (2018). Les gammes étalons réalisées à partir d'ADN génomique d'écrevisse du

Pacifique confirment bien la sensibilité du protocole mis en place à la quantité d'ADN présent dans l'échantillon, puisque le nombre de cycle de PCR nécessaire pour détecter l'ADN augmente si la concentration en ADN diminue. Malgré quelques cas de contamination, il est possible de discriminer 2 catégories d'échantillons d'eau, avec ou sans ADN d'écrevisse détecté, permettant de révéler sa présence dans le milieu. Par ailleurs, la probabilité de détection varie selon le débit, la présence d'écrevisse sur la station amont immédiat, le volume d'eau filtrée et l'abondance d'écrevisses sur la station (Figure 19). Par contre, on ne peut pas conclure sur un effet systématique de la dilution du signal ADN au niveau des confluences.

Pour analyser la distribution spatiale de l'écrevisse du Pacifique par ADN environnemental, nous avons considéré qu'il suffisait d'un réplica de PCR positif sur une station donnée pour considérer que l'espèce était détectée, en portant toutefois une attention particulière à des possibles faux positifs quand le nombre de cycle de PCR est élevé. De manière globale, l'écrevisse n'est pas détectée par analyse de l'ADNe dans 32% des stations où elle a été piégée sur la station. La situation inverse (détection par ADNe sur des stations où l'espèce n'a pas été piégée) concerne 40% des cas. Cette situation ressemble à ce qui a déjà été décrit pour les écrevisses en milieu lentique (Tréguier et al. 2014), et des problèmes de détectabilité rendent difficiles l'analyse des résultats station par station. La question de faux-positifs de source biologique est posée (Roussel et al. 2015), notamment en lien avec le transport d'ADN par les prédateurs de l'écrevisse exotique (héron, loutre, anguille, pour citer des espèces présentes sur le bassin versant).

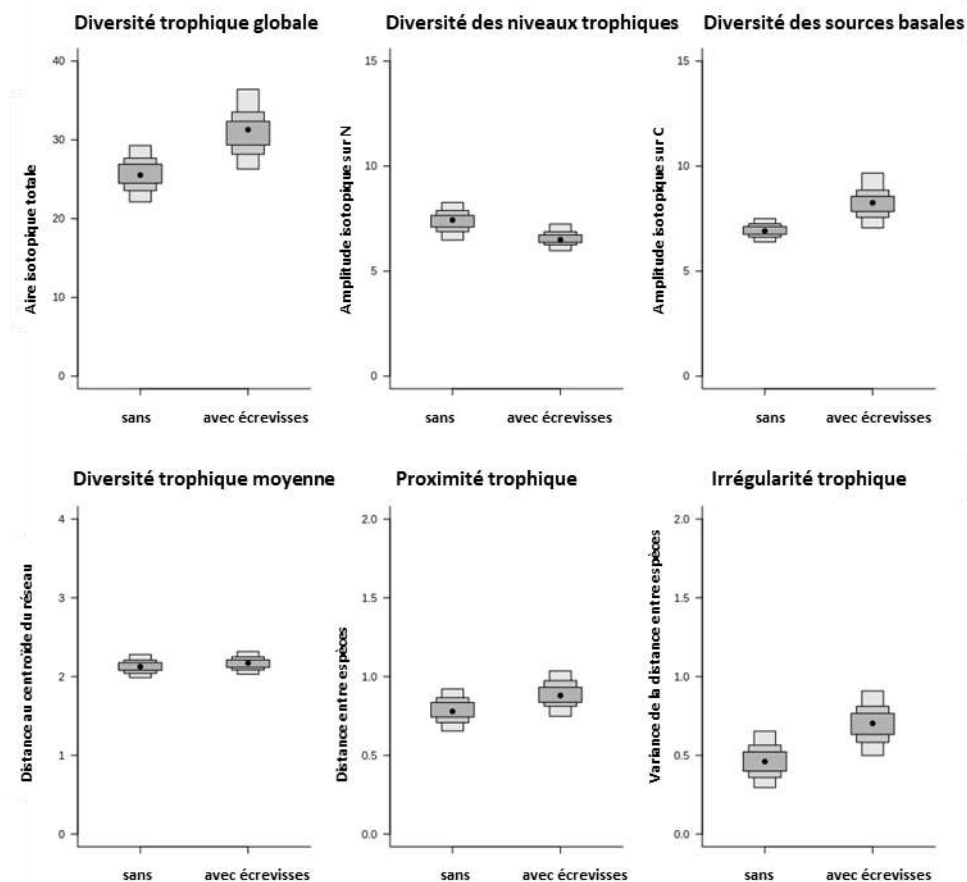
Malgré ces écueils, détecter la présence des écrevisses par ADNe présente une facilité de déploiement à des échelles temporelle et spatiale qui restent extrêmement difficiles à mettre en œuvre par des approches plus classiques de piégeage. L'information obtenue par l'approche moléculaire a été compilée aux informations existantes et au piégeage intensif réalisé au cours de cette étude pour produire la carte actualisée et la plus exhaustive possible de la distribution des écrevisses sur le bassin versant de la Sélune (Figure 20).



**Figure 20.** Distribution des écrevisses sur le bassin de la Sélune, combinant les informations de détection historiques, les piégeages et l'ADNe. OLL, *Orconectes limosus* (écrevisse américaine) ; PCC, *Procambarus clarkii* (écrevisse de Louisiane) ; PFL, *Pacifastacus leniusculus* (écrevisse du Pacifique) ; APP, *Austropotamobius pallipes* (écrevisse à pattes blanches, native). Les points noirs signalent des stations prospectées sans succès de détection.

## Quel effet l'écrevisse du Pacifique a-t-elle sur les réseaux trophiques ?

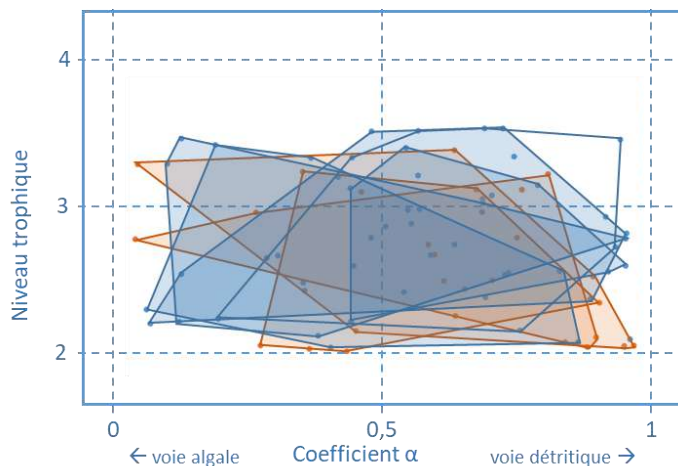
Dans l'échantillonnage initialement programmé sur 8 affluents, seul Ivret s'est avéré indemne d'une colonisation par l'écrevisse. Sur l'affluent Douenne, la station la plus amont (DOU3) a été aussi classée dans la catégorie sans écrevisse, même si 1 individu a été capturé pour 10 pièges déployés sur 24h. Cette très faible abondance suggère plutôt un processus de colonisation très récent, et donc des effets sur les réseaux trophiques peu marqués s'ils existent. En vue d'analyser la réponse des réseaux trophiques envahis par l'écrevisse, deux stations supplémentaires sans écrevisse (témoin) ont fait l'objet de prélèvements en 2017 pour analyses isotopiques : Argonce et Vau Roux. Comme pour les comparaisons précédentes entre affluents et cours principal, l'architecture du réseau trophique et l'organisation des niches isotopiques des espèces ont été comparés entre les stations sans ou avec l'écrevisse invasive, à l'aide des méthodes de simulations proposées par Jackson et al (2011).



**Figure 21.** Métriques isotopiques évaluant les différences de densité et d'étalement des valeurs isotopiques (C et N) des consommateurs du réseau trophique, en présence ou non de l'écrevisse du Pacifique.

Les résultats montrent que la diversité trophique globale dans le réseau est significativement plus forte en présence de l'écrevisse (Figure 21), les sources basales (amplitude isotopique sur le carbone) étant notamment plus variées. Toutefois, l'écrevisse ne donne aucun signal clair de basculement du réseau envahi vers la voie détritique ou la voie algale, comme en atteste l'analyse des contributions relatives du carbone d'origine algale ou détritique (Figure 22) calculées par modèles de mélange selon la méthode proposée par Quezada-Romegialli et al. (2018). Comme nous l'avons vu, l'écrevisse semble consommer plus de proies animales dans les affluents qu'elle colonise, comme l'atteste son niveau trophique plus élevé (voir Figure 18), mais dans le même temps elle ne subit qu'une faible pression de prédation par les organismes aquatiques à l'amont des lacs de barrage actuels. En effet, les stades subadultes et adultes de l'écrevisse ne peuvent être ingérés que par des poissons d'une certaine taille comme l'anguille, qui est encore absente des petits affluents de l'amont. Cela peut expliquer la plus

faible amplitude isotopique observée sur l'azote en présence d'écrevisse (Figure 21). Enfin, la position des niches trophiques des espèces est significativement différente en présence de l'écrevisse invasive, notamment on observe une distribution plus irrégulière, suggérant des regroupements des consommateurs sur des sources alimentaires communes.



**Figure 22.** Représentation schématisée des organismes aquatiques dans un plan bi-varié comprenant le niveau trophique (en ordonnée) et l'origine du carbone (en abscisse, coefficient  $\alpha$ ) dans les chaînes alimentaires des stations d'étude. Chaque point représente la position moyenne d'une espèce. En marron sont représentées des stations exemptes d'écrevisses invasives. Compte tenu des échantillons disponibles, ce type d'analyse n'a pu être réalisé que sur 8 stations (5 avec écrevisses, 3 sans écrevisse).

Ainsi, l'écrevisse invasive semble imprimer des différences d'architecture du réseau trophique dans les écosystèmes qu'elle colonise, qui se traduisent par une plus forte variabilité des sources basales utilisées, un raccourcissement des chaînes alimentaires et un réajustement des niches trophiques des espèces autour de ressources alimentaires communes. Cependant, l'étude des communautés d'invertébrés benthiques et de poissons ne révèlent pas de bouleversement sur les stations envahies. De plus, malgré un contraste assez fort d'abondance des écrevisses d'une station à l'autre, l'analyse croisée des abondances d'écrevisses et des biomasses d'invertébrés benthiques et de poissons n'a pas mis en évidence d'effet particulier (Figure 16). Sur la base des investigations menées, et dans la limite des abondances d'écrevisses observées sur les stations de cette étude, la présence d'écrevisse du Pacifique ne semble pas induire de changement majeur dans les communautés réceptrices, les différences mesurées semblent indiquer que les espèces semblent ajuster leurs niches trophiques.

## Conclusion

En conclusion, on peut dire que les barrages et les lacs sur le cours principal de la Sélune impriment des modifications visibles d'organisation des biocénoses et de leur fonctionnement en réseaux trophiques.

Ceci se traduit notamment au niveau des lacs par :

- Une rupture de la continuité amont-aval, avec la séquestration des matières en suspension, des nutriments phosphatés et de la silice, et parallèlement l'augmentation de la température de l'eau du fleuve à l'aval
- Une rupture de la continuité aval-amont pour les poissons diadromes, qui se traduit aussi par une rupture de continuité fonctionnelle liée au blocage des nutriments marins à l'aval, qui se propage le long des chaînes alimentaires aquatiques
- Une forte production primaire (microorganismes photosynthétiques) dans les eaux de surface des lacs, avec une tendance récurrente à l'apparition de blooms de cyanobactéries



Dans la Sélune et ses affluents on observe :

- Un fonctionnement modifié à l'aval des barrages actuels, où l'expression de la voie algale avec une plus forte activité photosynthétique et une plus forte production secondaire en invertébrés benthiques sont observées
- Une activité photosynthétique entraînant une production de biomasse de biofilm (essentiellement des diatomées) comparable entre affluents et cours principal de la Sélune à l'amont des barrages
- Des biomasses d'invertébrés benthiques (production secondaire) également proches entre affluents et la Sélune amont, indiquant une bonne capacité d'accueil trophique des affluents aux poissons diadromes qui coloniseront le réseau hydrographique après arasements
- De fortes abondances d'écrevisse du Pacifique à l'amont des barrages notamment sur le cours principal, sans influence visible sur les biomasses d'invertébrés benthiques malgré leur consommation probable par l'écrevisse
- Pas de changement majeur des communautés colonisées par l'écrevisse, mais un possible ajustement des niches alimentaires sans bouleversement de fonctionnement des réseaux trophiques
- Pas d'écrevisse à l'aval des barrages, ce qui semble à rapprocher d'une pression de prédation imposée par les poissons de grande taille, notamment l'anguille dont les abondances sont très fortes sous les barrages
- L'absence de poissons diadromes à l'amont des lacs de barrages actuels est confirmée

Enfin, le retrait des barrages, en rétablissant la continuité écologique sur la Sélune, devrait entraîner :

- Des eaux plus turbides à l'aval, rétablissant la contribution de la voie détritique dans le fonctionnement de l'écosystème
- Un très faible risque de bloom de cyanobactéries sur les zones lenticules à l'aval des gorges de la Sélune
- Dans les nouveaux habitats lotiques dans les gorges dénoyées, un fort développement des biofilms et de la voie algale dans les zones les plus turbulentes, à la faveur des nutriments disponibles
- La colonisation vers l'amont des espèces diadromes, les conditions trophiques des affluents en tête de bassin versant seront propices à accueillir l'anguille alors que les nouveaux habitats courants dans la zone des gorges devraient être des nurseries intéressantes pour les juvéniles de saumon
- Le rétablissement d'une pression de prédation par l'anguille sur l'écrevisse, de nature à en diminuer leurs abondances. Eventuellement, on devrait observer plus d'écrevisses à l'aval des barrages actuels à la faveur d'un relâchement de cette prédation

Une attention particulière devra être portée sur l'évolution du silure, *Silurus glanis*, à l'aval des gorges, dont la présence d'une population acclimatée et fonctionnelle est confirmée par des observations récentes et convergentes sur le terrain. Cette espèce est un grand prédateur, et sa présence pourrait modifier le processus attendu de colonisation de la Sélune par certains poissons diadromes, notamment les lamproies marines et fluviatiles.

Un autre point de vigilance concerne l'écrevisse à pattes blanches. Celle-ci est restée protégée des espèces exotiques envahissantes par l'effet barrière des lacs de retenue. Cette protection est levée par la baisse des niveaux d'eau, ce qui risque de rapidement affecter les dernières populations de cette espèce autochtone sur le bassin versant. Quel rôle pourra jouer l'anguille dans cette confrontation entre l'espèce autochtone et l'espèce exotique est aussi une question ouverte. D'une part, elle est sans doute capable de réguler significativement l'écrevisse du Pacifique, d'autre part, elle peut faciliter la transmission de la peste des écrevisses, *Aphanomyces astaci*.

Ainsi, les recherches réalisées dans le projet « réseaux trophiques » nous ont appris certains traits de fonctionnement et des dysfonctionnements des écosystèmes aquatiques sur la Sélune en présence des barrages et de leurs lacs. Cet état des lieux donne des éléments importants pour comprendre la restauration fonctionnelle de ces écosystèmes dans les années qui suivront la remise en continuité écologique par l'arasement des barrages.

## Bibliographie

- DeNiro MJ, Epstein S (1981). Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 45: 341–351
- Dorzio RM, Erickson RA (2018). ednaoccupancy: An R package for multiscale occupancy modelling of environmental DNA data. *Molecular Ecology Resources* 18, 368–380
- Jackson A, Inger R, Parnell A, Bearhop S (2011). Comparing isotopic niche width among and within communities: SIBER – Stable Isotope Bayesian Ellipses in R. *Journal of Animal Ecology*. 80. 595-602
- Kruk C, Huszar VL, Peeters ET, et al. (2010). A morphological classification capturing functional variation in phytoplankton. *Freshwater biology*, 55(3), 614-627
- Lorenzen CJ (1967). Determination of chlorophyll and pheopigments: spectrophotometric equations. *Limnology and Oceanography* 12: 343-346
- Peterson BJ, Fry B (1987). Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 18: 293–320
- Piscart C, Genoel R, Dolédec S, Chauvet E, Marmonier P (2009). Effects of intense agricultural practices on heterotrophic processes in streams. *Environmental Pollution* 157: 1011-1018
- Post D (2002). Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. *Ecology* 83, 703–718.
- Quezada-Romegialli C, Jackson A, Hayden B, Kahilainen K, Lopes C, Harrod C (2018). tRophicPosition, an R package for the Bayesian estimation of trophic position from consumer stable isotope ratios. *Methods in Ecology and Evolution* 9: 1592-1599
- Rimet F, Bouchez A (2012). Life forms, cell-size and ecological guilds of diatoms in European rivers. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* 406, 01.
- Roussel J-M, Paillisson J-M, Tréguier A, Petit E (2015). The downside of eDNA as a survey tool in water bodies. *Journal of Applied Ecology* 52: 823-826
- Roussel J-M, Perrier C, Erkinaro J, Niemelä E, Cunjak RA, Huteau D, Riera P (2014). Stable isotope analyses on archived fish scales reveal long-term effect of dissolved inorganic nitrogen loads on carbon cycling in rivers. *Global Change Biology* 20, 523–530
- Tachet H, Richoux P, Bournaud M, Usseglio-Polatera P (2010). *Invertébrés d'Eau Douce. Systématique, Biologie, Écologie*. CNRS éditions, ISBN 978-2-271-06945-0, 607p
- Tréguier A, Paillisson J-M, Dejean T, Valentini A, Schlaepfer MA, Roussel J-M (2014). Environmental DNA surveillance for invertebrate species: advantages and technical limitations to detect invasive crayfish *Procambarus clarkii* in freshwater ponds. *Journal of Applied Ecology* 51: 871-879
- Vallet D, Petit E, Gatti S, Levréro F, Ménard N (2008). A new 2CTAB/PCI method improves DNA amplification success from faeces of Mediterranean (Barbary macaques) and tropical (lowland gorillas) primates. *Conservation Genetics* 9, 677-680.

## Annexes

## Rapport d'avancement 2015

# Effets de l'arasement des barrages sur le fonctionnement des réseaux trophiques

## Avancement des travaux

### **UMR ESE Ecologie et Santé des Ecosystèmes (INRA / Agrocampus-Ouest à Rennes)**

Dominique Barloy, Caroline Gorzerino, Dominique Huteau, Eric Petit, Maxime Poupelin,  
Jean-Marc Rousselet

### **UMR ECOBIO Ecosystèmes, Biodiversité, Evolution (CNRS/Université Rennes 1)**

Guillaume Bouger, Jean-Marc Paillisson, Alexandrine Pannard, Christophe Piscart

### **Contexte du projet**

Le projet « Réseaux Trophiques » (« projet RT » par abréviation dans la suite du document) a l'ambition de considérer, dans un ensemble large, les différentes composantes des biocénoses aquatiques et rivulaires de la Sélune, des sources à l'estuaire. Sans focaliser sur un groupe taxonomique ou une communauté d'espèces en particulier, la démarche vise à étudier les interactions entre ces composantes, des microorganismes aux poissons, avec pour objectif principal de comprendre les relations trophiques (« qui mange quoi »). Les interactions trophiques sous-tendent en grande partie les équilibres (et les déséquilibres) que l'on peut observer au sein des écosystèmes. Décrivant le fonctionnement des écosystèmes, ce type d'approche sur les réseaux trophiques est souvent qualifiée de fonctionnelle. Dans le cas présent, le projet RT doit permettre de comprendre les équilibres trophiques actuels dans les écosystèmes aquatiques, des têtes de bassin versant à l'estuaire, puis de suivre les modifications engendrées par la restauration des continuités écologiques, et notamment les nouveaux équilibres qui s'installeront au sein des biocénoses aquatiques.

Les recherches menées dans le projet RT apporteront des réponses aux questions génériques suivantes : 1- quelles conséquences ont les opérations de démantèlement de barrages sur les biocénoses aquatiques en place, leurs interactions et le fonctionnement des écosystèmes aquatiques, des têtes de bassin versant à l'estuaire ? Comment l'écosystème rivière se restaure-t-il à l'emplacement précis d'un ancien lac de barrage ? Quels sont les rôles de certaines espèces clés (notamment les poissons amphihalins et les espèces invasives) dans les nouveaux équilibres de l'écosystème cours d'eau reconnecté à l'océan ?

### **Rappel des objectifs**

Durant la période 2014-2018, avant l'ouverture de l'hydrosystème aux migrateurs amphihalins, deux objectifs sont particulièrement visés par le projet RT dans sa configuration initiale. Il s'agit :

- 1- d'établir, avant les opérations de vidange, un état de lieux des réseaux trophiques et du fonctionnement des écosystèmes aquatiques sur le fleuve (hors estuaire) et les affluents,
- 2- d'étudier, à partir des opérations de vidange, la mise en place des nouveaux équilibres trophiques dans les néo-habitats d'eau courante.

Il convient de noter que les retards actuels de l'ensemble du programme d'arasement rendent incertaine la réalisation des travaux dans la période couverte par la convention (2014-2018) et donc l'atteinte des objectifs précédemment énoncés.

### **Partenaires scientifiques impliqués et évolution**

Le projet RT regroupe 7 chercheurs de deux Unités Mixtes de Recherche : Ecologie et Santé des Ecosystèmes (INRA-Agrocampus Ouest à Rennes) et Ecobio (CNRS-Université de Rennes). Il a

débuté de manière effective au troisième trimestre 2014 avec le recrutement d'un assistant ingénieur, Maxime Poupelin, dont le rôle est de mener les campagnes d'échantillonnage sur le terrain, de contribuer à la préparation des échantillons et au rendu des résultats.

Un nouveau partenaire, le laboratoire Environnement et Ressources d'IFREMER Dinard, doit rejoindre le projet RT en 2016 dans le but d'étendre les travaux à l'estuaire de la Sélune et à la petite baie du Mont Saint-Michel. Sur ce point, une demande de financement complémentaire est en préparation, le projet RT initial n'ayant pas intégré le coût des recherches sur l'estuaire et la petite baie.

### **Organisation du rapport**

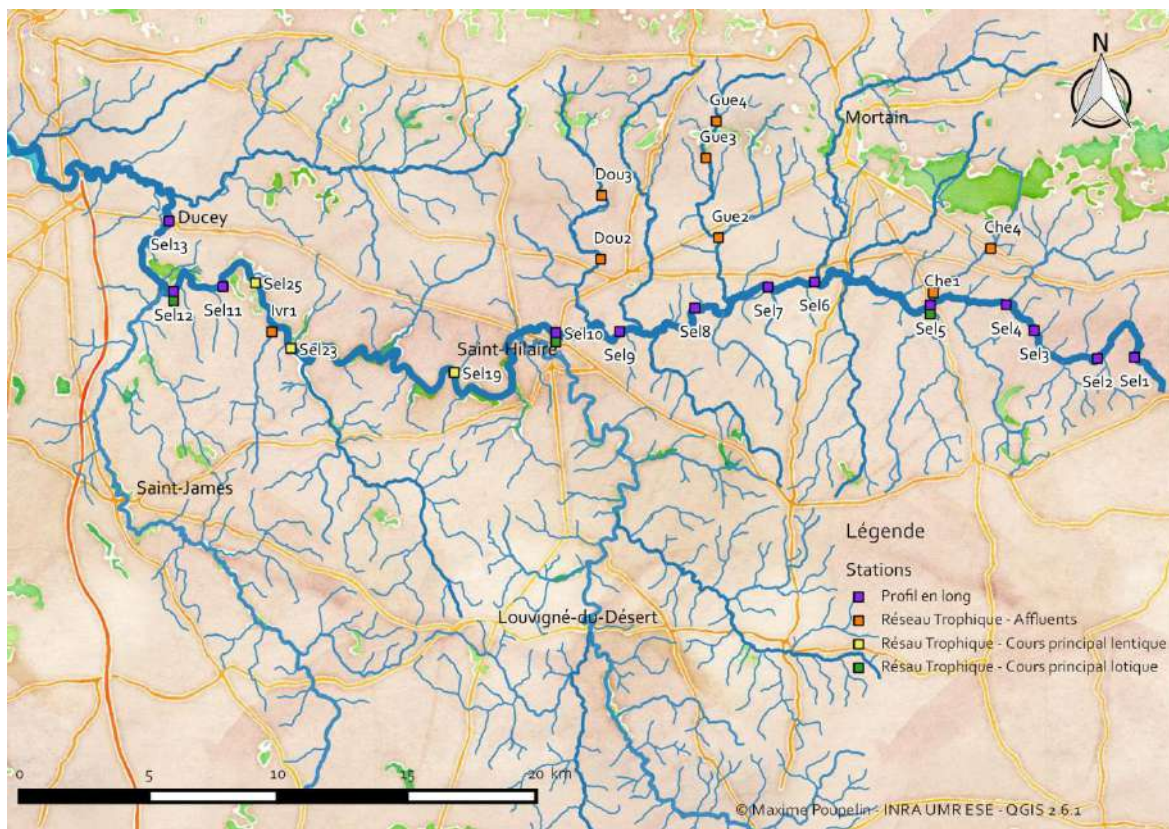
Suite au retard d'ouverture du projet par rapport aux prévisions, l'année 2014 n'aura été que très peu mise à profit pour les échantillonnages de terrain. Les premiers développements réalisés en 2014 ont été intégrés dans ce rapport 2015, pour présenter l'état d'avancement le plus complet possible du projet RT. En suivant la proposition initiale, le rapport s'organise en 3 parties qui correspondent aux travaux menés :

**Partie I.** A l'échelle de l'hydrosystème entier (hors estuaire et baie)

**Partie II.** Sur 6 stations pilotes du cours principal (5 étaient prévues initialement)

**Partie III.** Sur 8 stations pilotes en affluents (5 étaient prévues initialement)

La carte présentée ci dessous (**Figure 1**) reprend l'ensemble des stations échantillonnées dans les 3 parties du projet RT (profil en long, réseaux du cours principal, réseaux des affluents). Pour suivre l'avancement des travaux, chaque partie débute par un tableau qui rappelle les livrables attendus. Dans ces tableaux, une croix verte signifie que le livrable est accompli, une croix orange qu'il est en cours (léger retard par rapport aux prévisions), une croix rouge qu'il n'a pas été réalisé (décalage de programmation). Ensuite pour chaque partie, les résultats obtenus sont présentés sous une forme synthétique et illustrative, mettant en avant les principales avancées et conclusions du projet RT pour l'année 2015.



## Partie I. A l'échelle de l'hydrosystème Sélune

	2014		2015	
	S1	S2	S1	S2
<b>Echelle hydrosystème Sélune</b>				
1- Profil isotopique de référence	X		X ajout	
2- Essai détectabilité par ADNe	X report	X report	X rattrapage	X rattrapage
3- Distribution spatiale écrevisse signal			X	X
<b>Travaux en laboratoire</b>				
Préparation des échantillons isotopes		X	X	X
Préparation et analyse de barcoding alimentaire			X report	X report
Analyse des isotopes stables (prestations externes)				X
<b>Interprétation des résultats</b>				
<b>Valorisation</b>			X	X

### 1- Profil isotopique de référence (Jean-Marc Roussel, ESE).

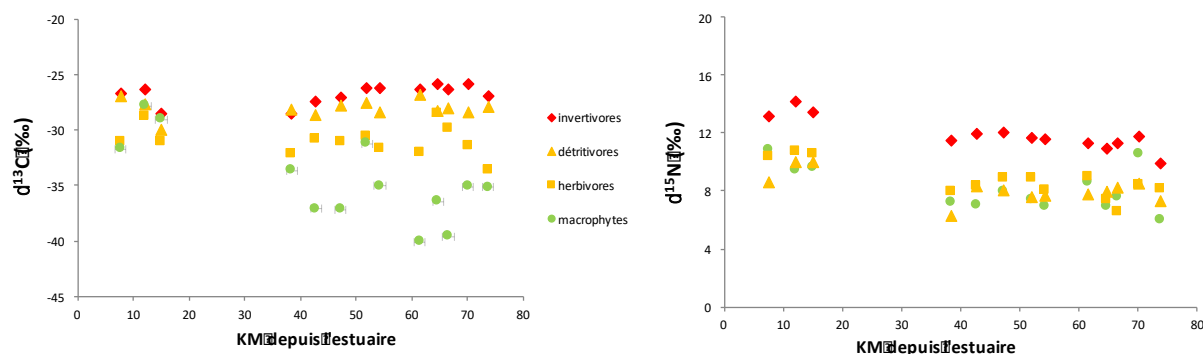
L'analyse des isotopes stables dans les organismes aquatiques est l'une des méthodes retenues pour étudier les réseaux trophiques et leur fonctionnement dans le projet RT. L'objectif de cette partie du travail est de fournir un état de référence isotopique des biocénoses aquatiques sur le cours principal de la Sélune, le long d'un profil allant de la source à la limite amont de l'estuaire. Pour cela, ont été ciblés particulièrement des plantes (macrophytes, producteurs primaires), des invertébrés benthiques (consommateurs primaires de type herbivore et détritivore) et des poissons (consommateurs secondaires mangeant des invertébrés) sur les 13 stations choisies (**Figure 1**). Contrairement au plan initial qui ne prévoyait qu'un seul profil en long, les prélèvements ont été doublés (étés 2014 et 2015), pour apprécier la variabilité inter-annuelle. Les échantillons des deux profils ont été préparés au laboratoire (nettoyage, lyophilisation, pesées et encapsulation en feuilles d'étain) en vue de leur analyse en spectrométrie de masse atomique par un prestataire extérieur (University of New Brunswick, Canada). Les isotopes stables du carbone et de l'azote ont été choisis, conformément à la majorité des études dans le domaine. Pour l'instant, seulement les résultats du profil de 2014 (239 échantillons) sont disponibles, les échantillons de 2015 (environ 300) seront analysés au premier semestre 2016.

Pour les isotopes stables du carbone, les résultats du profil isotopique de 2014 révèlent une certaine régularité des valeurs d'une station à l'autre chez les invertébrés et les poissons, sans qu'une tendance nette ne se dégage sur le gradient amont-aval (**Figure 2**). Par contre, les valeurs obtenues pour producteurs primaires sont assez nettement différentes aux stations à l'aval des barrages. Cela doit correspondre à une modification de la composition isotopique du carbone inorganique dissous (DIC) disponible et utilisé par les macrophytes lors de la photosynthèse. S'agissant d'un enrichissement en isotopes lourds du carbone ( $^{13}\text{C}$ ), deux mécanismes peuvent être à l'œuvre, éventuellement de manière additive: 1) un DIC enrichi en  $^{13}\text{C}$  provenant des lacs de retenues présents en amont, ou 2) une utilisation plus élevée par ces plantes de carbone d'origine atmosphérique (normalement enrichi  $^{13}\text{C}$ , et dont la diffusion physique dans l'eau sous forme de DIC augmente sous l'effet d'une plus forte demande en carbone venant des producteurs primaires).

Pour les isotopes stables de l'azote, l'effet amont-aval des barrages est visible sur les producteurs primaires (macrophytes) et les consommateurs primaires (invertébrés) et secondaires (poissons) dans les réseaux trophiques (**Figure 2**). Ce résultat est conforme à l'attendu initial, et permet de poser une hypothèse de travail qui sera testée après l'enlèvement des barrages et la remise en continuité mer-rivière. En effet, les isotopes lourds de l'azote ( $^{15}\text{N}$ ) qui sont plus fortement présents dans les réseaux trophiques à l'aval des barrages peuvent provenir, comme pour le carbone, des lacs de retenues, ou bien de la mer *via* des apports de nutriments d'origine marine transportés par les poissons amphihalins. Dans le premier cas (effet de nutriments dérivant des retenues), l'enlèvement des barrages conduira à la baisse des isotopes lourds de l'azote sur les stations aval. Dans le second cas (effet de nutriments marins transportés par les migrateurs amphihalins), l'enlèvement des barrages conduira au contraire à l'augmentation des isotopes lourds de l'azote vers l'amont, par remise en circulation des migrateurs.

En perspective 2016 pour le profil isotopique de référence (pré-arasement), les actions suivantes sont prévues :

- i) les résultats ci-dessus seront renforcés par la seconde série de prélèvements (environ 300) effectuée en 2015 (analyse à venir, premier semestre 2016)
- ii) une nouvelle campagne de prélèvements est prévue en 2016 pour poursuivre le profil en long par une radiale passant dans l'estuaire de la Sélune et la Petite Baie du Mont Saint-Michel. Ce travail sera réalisé dans le cadre du projet à venir sur l'environnement marin côtier, menés avec le laboratoire IFREMER de Dinard. L'analyse des isotopes stables (carbone et azote) sera conduite sur la matière organique particulaire, à partir d'échantillons obtenus par filtration d'eau et collectés de la source de la Sélune au Mont Saint-Michel.



**Figure 2.** Proportion (‰, axes des ordonnées) en isotopes lourds du carbone (graphique de gauche, notation conventionnelle  $\delta^{13}\text{C}$ ) et de l'azote (graphique de droite, notation conventionnelle  $\delta^{15}\text{N}$ ) dans les organismes aquatiques collectés sur le cours principal de la Sélune (été 2014) à différentes stations, depuis la limite de salure des eaux (notée KM zéro en abscisse) jusqu'à la source (KM 80). Seuls les habitats courants de type radier ont été échantillonnés ; aucun prélèvement n'a été réalisé aux emplacements des 2 lacs de retenues entre les kilomètres 15 et 38. Les organismes aquatiques sont classés en 3 catégories, les producteurs primaires (plantes aquatiques ou macrophytes, en vert), les invertébrés benthiques de régime herbivore ou détritivore (en jaune), et les poissons qui mangent des invertébrés (invertivore, en rouge).

## 2- Essais de détectabilité par ADN environnemental : mise au point d'un protocole pour l'écrevisse signal (Eric Petit, ESE)

Les techniques développées dans le cadre de l'analyse de l'ADN environnemental offrent aujourd'hui des possibilités de standardisation des moyens de détection des espèces vivantes dans le milieu aquatique. Ces protocoles ont démontré leur efficacité pour détecter des vertébrés (poissons, amphibiens) ou des invertébrés (mollusques, écrevisses), mais demandent une mise au point propre à chaque contexte. Le plus significatif est que ces protocoles ont à ce jour été encore peu utilisés en rivière dans les eaux courantes (milieu lotique). Notre objectif premier est ici de caractériser la distribution spatiale d'espèces qui, comme l'écrevisse signal ou l'anguille, ont un fort impact sur les chaînes trophiques dans lesquelles elles s'insèrent. L'écrevisse signal est présente sur le bassin versant, notamment en amont de la retenue de Vezins, alors qu'elle semble absente ou rare dans les affluents qui se jettent directement dans les retenues ou en aval des barrages. Cette situation risque de changer après l'arasement des deux ouvrages hydroélectriques, et la détection d'ADN environnemental doit nous permettre de repérer les premiers signaux de ces modifications d'aire de distribution à l'échelle du bassin versant. L'écrevisse est également soupçonnée d'exercer une prédation sur les très jeunes stades de développement des salmonidés, notamment à proximité des frayères à saumon.

L'année 2015 a été l'occasion de travailler sur deux objectifs opérationnels dont la finalité est de mettre au point une méthode d'étude du suivi de l'évolution de la distribution spatiale de l'écrevisse signal sur la Sélune et ses affluents : (i) la mise en œuvre d'un protocole d'échantillonnage destiné à permettre d'évaluer trois paramètres importants pour interpréter les résultats des analyses de laboratoires. Ces trois paramètres sont la probabilité de détection (quelle est la chance de détecter l'espèce quand elle est présente), l'effet de la dévalaison (quel est l'effet de la présence de l'espèce sur sa probabilité de détection vers l'aval), et l'influence des confluences (quelle est l'influence de l'ajout des débits de deux affluents sur la probabilité de détection) ; (ii) la mise au point d'amorces et



d'une sonde spécifiques à l'écrevisse signal. Ces travaux ont notamment été menés dans le cadre du stage de Master 1 « Patrimoine Naturel et Biodiversité » de Marion Marlin.

- i) Trois campagnes d'échantillonnage ont été réalisées en avril, mai et juin 2015 sur 3 affluents de la Sélune (2 sites sur la Gueuche, un sur la Menesle, un sur Chenilly). Sur chaque site, 7 à 8 points répartis sur quelques centaines de mètres ont été échantillonnés de l'aval vers l'amont sur un cours d'eau, avant que ne soit échantillonné un point complémentaire sur un affluent. Chaque prélèvement consistait en un flacon de 500ml d'eau. A chaque point d'échantillonnage, nous avons effectué 4 prélèvements dans la colonne d'eau et 4 prélèvements à la surface des sédiments, pour un total de (4+4) prélèvements x 8 points d'échantillonnage x 4 sites x 3 dates = 768 échantillons de 500ml. Ces échantillons ont été filtrés au laboratoire, et les filtres ont servi à l'extraction d'ADN. Les premières analyses de ces échantillons par PCR quantitative ont permis de montrer que les prélèvements permettent de détecter une espèce de poisson présente en abondance, le chabot, utilisé ici à titre de comparaison avec l'écrevisse. En parallèle, 10 nasses ont été posées à chaque point de prélèvement pour avoir un indice d'abondance de l'écrevisse signal.
- ii) Afin d'analyser l'ADN extrait des échantillons ci-dessus, il est nécessaire de dessiner des amorces et une sonde spécifiques de l'espèce recherchée. Un premier essai conduit lors du stage de Marion Marlin ne s'étant pas révélé concluant, pour cause de réaction croisée avec d'autres espèces, de nouvelles amorces et sondes ont été dessinées et sont en cours de test. Dès que leur mise au point sera terminée, elles permettront d'analyser l'ensemble des échantillons mentionnés ci-dessus, ces analyses devant conduire à une estimation des trois paramètres mentionnés ci-dessus, dans le courant de l'année 2016.

### 3- **Distribution spatiale des espèces d'écrevisse** (Jean-Marc Paillisson, Ecobio)

L'état des lieux de la distribution spatiale du peuplement d'écrevisse sur le bassin de la Sélune est présenté dans le rapport d'étape 2015 du sous-thème « Dispersion et Recolonisation » (convention AESN-INRA n°1054505). Il a permis de choisir les stations retenues pour les travaux sur l'ADN environnemental (voir Partie I-2 ci-dessus).

Cet inventaire reste incomplet, malgré la campagne de piégeage de grande envergure consentie en 2014 et consolidé en 2015. Une fois au point, la méthode par ADN environnemental pourra être déployée pour suivre plus finement l'évolution de la colonisation du bassin de la Sélune par l'écrevisse signal, et ses interactions avec les biocénoses en place.

## **Partie II. Sur les 6 stations pilote du cours principal**

	2014		2015	
	S1	S2	S1	S2
<b>6 stations pilote sur la Sélune</b>				
1- Etude des communautés végétales et animales	X report		X rattrapage	
2- Activité photosynthétique	X report		X rattrapage	
3- Dégradation de la matière organique	X report	X report	X rattrapage	X rattrapage
4- Analyse des réseaux trophiques (isotopes stables et barcoding alimentaire), prélèvements	X report		X rattrapage	
5- Mise au point du barcoding alimentaire		X report	X rattrapage	
<b>Travaux en laboratoire</b>				
Tri et détermination taxonomique			X	X
Préparation des échantillons pour l'ergostérol		X report	X report	X report
Préparation des échantillons pour les isotopes		X report	X rattrapage	X
Dosage C, N et P dans les végétaux		X report	X	X
Préparation et analyse de barcoding alimentaire			X report	X report
Analyse de l'ergostérol (prestation externe)				X report
Analyse des isotopes stables (prestations externes)				X
<b>Interprétation des résultats</b>			X	X
<b>Valorisation</b>				

### 1- **Etude des communautés végétales et animales en place** (collectif ESE et Ecobio).

Le travail a pour objectif de décrire les biocénoses aquatiques, végétales et animales, en place sur les 6 stations de référence choisies. Il s'appuie sur des inventaires réalisés à partir des méthodes spécifiques aux différents groupes taxonomiques et conventionnellement utilisées dans ce type d'étude. Il doit permettre la caractérisation des communautés, d'un point de vue structural (détermination taxonomique, abondance, biomasse) et fonctionnel (production primaire, dégradation de la matière, production secondaire, organisation trophique, fonctionnement des réseaux trophiques).

#### i) **Les communautés végétales aquatiques** (Julie Coudreuse, ESE)

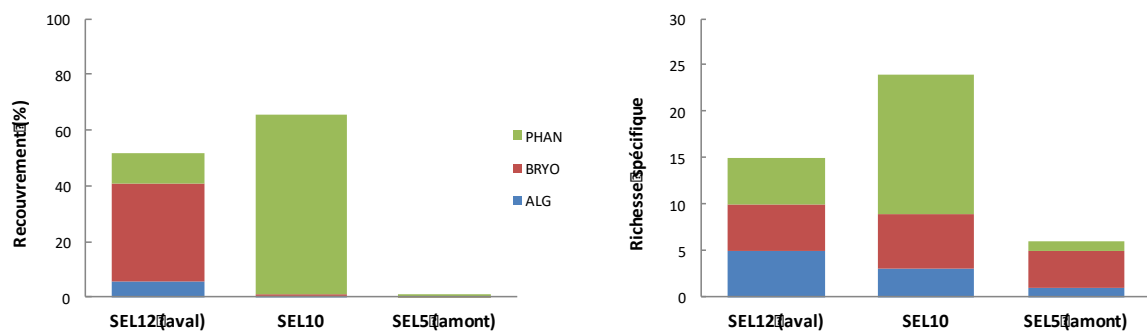
Les inventaires ont été réalisés au cours du mois de juillet 2015, hors épisodes hydrologiques pouvant influencer le développement de la végétation. Les stations de relevés correspondent à des tronçons de 50m linéaire, positionnées de manière à maximiser la diversité végétale (secteurs lotiques, en partie éclairés), sur lesquels tout macrophyte (colonie d'algue, de lichen, bryophyte ou phanérogame visible à l'œil nu) a été caractérisé en terme de taxonomie et d'abondance sur la station. Les identifications taxonomiques ont été validées au laboratoire *via* des observations microscopiques pour les taxons difficiles (systématiquement pour les algues, bryophytes, callitriches, renoncules et potamots). A noter que les 3 stations à l'intérieur des retenues ont été prospectés sur un linéaire de berge de 50m, jusqu'à une profondeur d'1.20 m, mais qu'aucun macrophyte n'y a été recensé.

La station amont (SEL5) présente des caractéristiques mésologiques différentes des autres stations sélectionnés (SEL10 et SEL12). Malgré un positionnement de la station visant à minimiser ces écarts mésologiques (centrage sur le radier), les conditions d'habitats y sont suffisamment particulières pour influencer nettement la végétation aquatique. Ainsi, l'augmentation de l'ombrage limite le développement des phanérogames et des algues (respectivement présentes en un seul taxon). De même, la prédominance du faciès d'écoulement lent à substrat vaseux limite celui des bryophytes, le faciès plus lotique (radier) ne représentant qu'une faible surface de la station (30%). La végétation aquatique est, ainsi, peu diversifiée (6 taxons) et très peu abondante (1% de recouvrement) sur la station SEL5 (**Figure 4**).

La station médiane (SEL10) et la station aval (SEL12), sont comparables d'un point de vue milieu physique sauf pour les contraintes hydrologiques : fortes variations hydrologiques en aval et présence d'une zone exondée lors de l'étiage sur le radier en amont. Cette dernière station permet

ainsi le développement d'un cortège de phanérogames hélophytes (8 espèces) se superposant aux espèces strictement aquatiques, augmentant ainsi la diversité de ce groupe en station SEL10 (**Figure 4**). La flore de ces deux stations est finalement diversifiée (une quinzaine d'espèces) et équilibrée entre groupes taxonomiques, en accord avec leur position sur le gradient longitudinal (*Ranunculo-Callitricetum hamulatae*).

L'hydrologie contrastée de la station aval SEL12 entraîne une limitation du développement des phanérogames immergées, facilement arrachés lors des lâchés d'eau et *a contrario*, un développement important de la mousse *Octodicerias fontanum* (30% de recouvrement sur la station d'étude), caractéristique d'aval de moulins et de l'algue rhéophile *Lemanea sp.* (4% de recouvrement) (**Figure 4**). Le Potamot crépu (espèce plutôt retrouvée en plans d'eau, pouvant proliférer) y est présent en faible quantité et résulte d'échappées des retenues.



**Figure 4.** Répartition des différents groupes taxonomiques de macrophytes sur le cours principal de la Sélune (amont et aval des retenues) en juillet 2015, selon l'abondance (à gauche, pourcentage de recouvrement sur la station) et la richesse spécifique (à droite, nombre d'espèces).

Certains éléments floristiques semblent réagir à l'aval des barrages, où on remarque notamment un développement d'algues (*Oedogonium sp.* et *Cladophora sp.*) et la perte de la bryophyte *Chiloscyphus polyanthos*. Toutefois, il ne semble pas y avoir de perturbation significative dans les communautés végétales aquatiques si l'on s'en réfère à l'Indice Biologique Macrophytique en Rivière (IBMR) dont les résultats détaillés sont présentés dans le sous-thème « Biomonitoring et Qualité Biologique » (convention AESN-CNRS n°1053864). Des effets mineurs sur les producteurs primaires peuvent se propager le long de réseaux trophiques, ce qu'il conviendra d'étudier dans l'approche multi-compartiments du projet RT.

## ii) Les communautés planctoniques et biofilms (Alexandrine Pannard, Ecobio ; Caroline Gorzerino, ESE)

Pour l'étude du biofilm, des substrats artificiels ont été mis en place sur les 6 stations. Pour les stations en zone lentic (SEL19, SEL 23 et SEL 25, correspondant au pont de la République, au Barrage de Vezins et au Barrage de la Roche qui Boit respectivement), 2 cagettes ont été positionnées dans la colonne d'eau à 1m et 2m de profondeur, fixées à une bouée. Ces cagettes contiennent 6 lames de verre de 30 x 10 x 3 mm. Pour les stations situées en zone lotique (SEL 10 et SEL 12, correspondant à St Hilaire et au Pont de Signy respectivement), une cagette contenant également 6 lames a été fixée au fond du lit. Pour la station SEL5 (Sélune amont), 5 supports comportant chacun 6 lames de microscope ont été placés au fond du lit pendant un mois, en utilisant les mêmes dispositifs que pour les affluents (voir Partie III).

En juin 2015, les conditions physico-chimiques des stations ont été caractérisées (température, conductivité, pH, oxygène dissous et turbidité) grâce à des sondes multiparamétriques. Des prélèvements d'eau ont également été effectués afin d'analyser les concentrations en nitrates, phosphates et silicates. La biomasse de phytoplancton a été mesurée *in situ* grâce à une sonde de fluorescence (Idronaut) et par des dosages de la chlorophylle *a* en laboratoire selon la méthode de Lorenzen. Les peuplements planctoniques ont été fixés au lugol acide et conservés à l'obscurité et à 4°C. La structure des communautés phytoplanctoniques est déterminée par comptage au

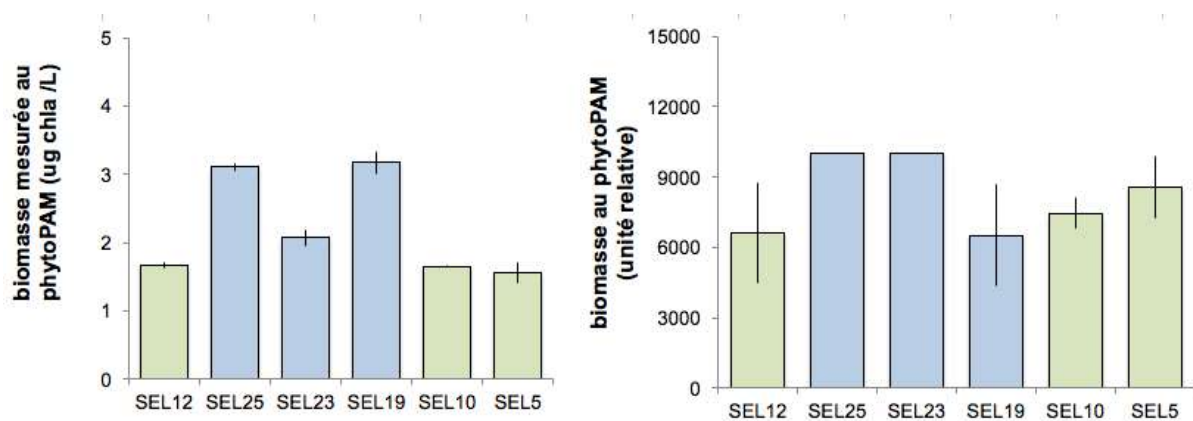
microscope optique. Les densités d'espèces dans la colonne d'eau sont exprimées en unité de cellule par ml (nombre de cellules ml<sup>-1</sup>).

Les lames ont été retirées des cagettes après 1 mois d'immersion (mai 2015). Nous avons alors procédé au raclage de celles-ci pour la réalisation de différentes analyses : poids sec sans cendre (ou AFDM ash-free dry mass), chlorophylle *a*, étude des communautés et analyse des isotopes stables. Une lame non raclée a permis de réaliser des mesures au Phyto-PAM (mesure de l'activité photosynthétique) et l'estimation de la chlorophylle *a*. L'AFDM est réalisée au laboratoire après un passage à l'étuve (72h, 105°C) puis au four sans cendre (1h, 500°C), pour estimer la quantité de matière organique présente dans le biofilm pour chaque station.



**Figure 5.** Lames colonisées après 1 mois d'immersion sur une station de la Sélune

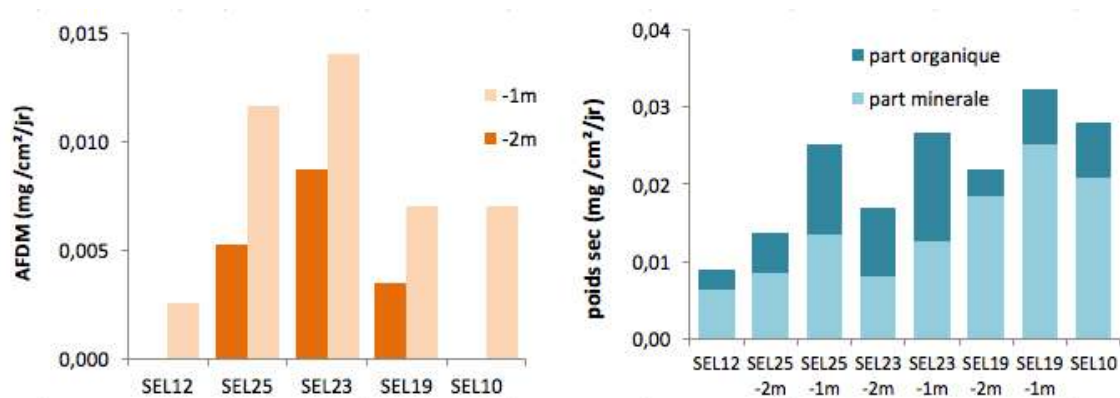
La biomasse de phytoplancton est très faible, que ce soit dans les stations lotiques ou lentiques, avec des concentrations entre 2 et 3 µg chla/L d'après le phytoPAM (**Figure 6**), atteignant 9 µg chla/L par la méthode de référence de Lorenzen. Des concentrations plus élevées en phytoplancton étaient attendues dans la zone des barrages. Le suivi saisonnier dans le cadre du projet Biomonitoring a montré que cette faible valeur de biomasse de phytoplancton dans les barrages coïncidait néanmoins à un pic de zooplancton, autrement dit la 'phase d'eau claire' des barrages, qui laisse ensuite place au développement estival des cyanobactéries. Les stations lotiques SEL10 et SEL12 présentent des concentrations assez similaires en biofilm et en phytoplancton.



**Figure 6.** Biomasses du phytoplancton (gauche) et du biofilm (droite) sur les stations d'études. Les traits verticaux représentent les écarts types autour de chaque moyenne ; les barres bleues et vertes correspondent aux stations lentiques et lotiques, respectivement.

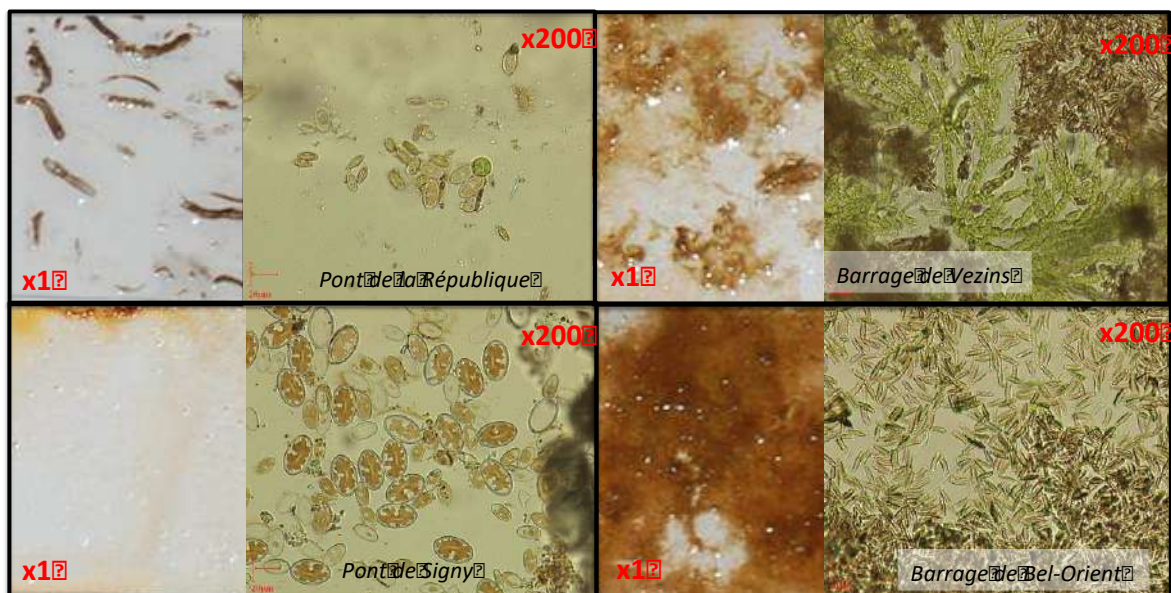
La biomasse de biofilm montre un maximum dans les 2 barrages, aux stations SEL19, SEL23 et SEL25 (**Figure 7**), avec une plus grande proportion de matière organique, ce qui est par ailleurs en accord avec les suivis réguliers dans le cadre du projet biomonitoring. Les stations SEL23 et

SEL25 dans les lacs sont les plus productives en biomasse, surtout à -1m, alors que les stations SEL 19 (pont de République, queue de la retenue de Vezins) et SEL10 en rivière présentent un biofilm dont de matière minérale est très forte.



**Figure 7.** Biofilm des stations du cours principal. A gauche : mesure du poids sec sans cendre à 1m et 2m de profondeur dans les retenues, ou sur le fond dans la rivière (SEL 10 et SEL 11). A droite : parts relatives des composantes organiques et minérales du biofilm.

D'un point de vue taxonomique, l'observation des premières lames montre des biofilms dominés par des diatomées, avec quelques Chlorophycées dans les stations lentiques. Les espèces observées dans les différents biofilms (**Figure 8**) sont caractéristiques des conditions lotiques ou lentiques de la station. Ainsi *Cocconeis* sp. est observée dans les stations lotiques en SEL10 et SEL12, et aussi dans de nombreux affluents. Dans les barrages, le biofilm est beaucoup plus épais et structuré. La Chlorophycée *Stigeoclonium* sp (**Figure 8**, photo « barrage de Vezins ») est régulièrement observée, formant des patches verts au milieu des diatomées. Cette espèce est caractéristique des milieux à faible courant.



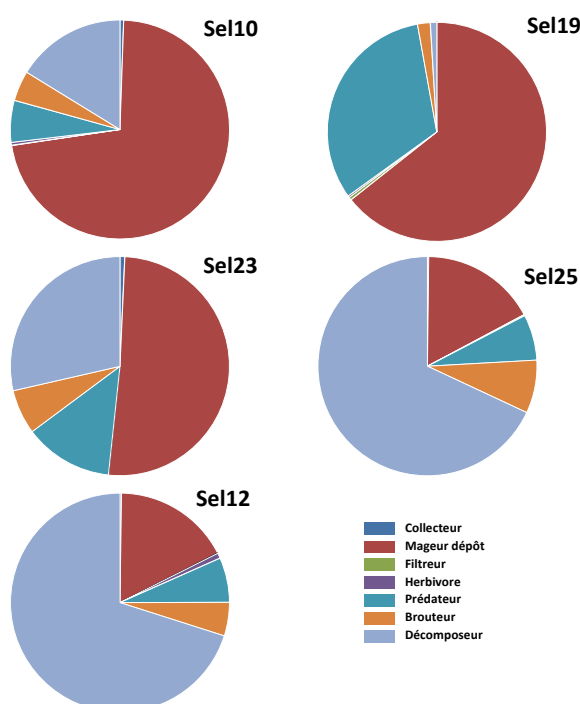
**Figure 8.** Photographie du biofilm collecté sur les lames de verre (x1) et vue au microscope (x200), dans les stations amont et aval des barrages (photos de gauche) et dans les barrages (à droite).

En perspective à ce travail, les nouveaux dosages de chlorophylle a du biofilm qui seront effectués début 2016 ainsi que l'analyse des communautés présentes, donneront plus de précisions sur la composition des biofilms. Ces biofilms représentent un potentiel alimentaire important pour les

biocénoses aquatiques animales, dont il conviendra de définir le rôle dans le fonctionnement des réseaux trophiques *via* l'étude des isotopes stables. Une nouvelle campagne de prélèvements sera effectuée en 2016, de manière à renforcer les résultats obtenus.

iii) **Les communautés d'invertébrés aquatiques** (Christophe Piscart, Ecobio)

Des prélèvements d'invertébrés ont été réalisés à l'automne 2014, printemps 2015 et automne 2015. Pour chaque site, quatre substrats artificiels constitués par 5L de galets ont été utilisés pour déterminer la structure trophique des communautés d'invertébrés. Cette méthode a été retenue afin de limiter l'effet substrat dans la comparaison inter-site. Le tri des échantillons est en cours, nous avons privilégié dans un premier temps l'analyse de la campagne de printemps 2015 pour comparer la structure des peuplements avec les résultats obtenus sur les affluents à la même période. Néanmoins, la station SEL5 n'a pas pu être relevée au printemps 2015.



**Figure 9.** Proportions relatives des principales guildes trophiques dans les communautés d'invertébrés sur les stations de la Sélune en Mars 2015 (sauf pour SEL5).

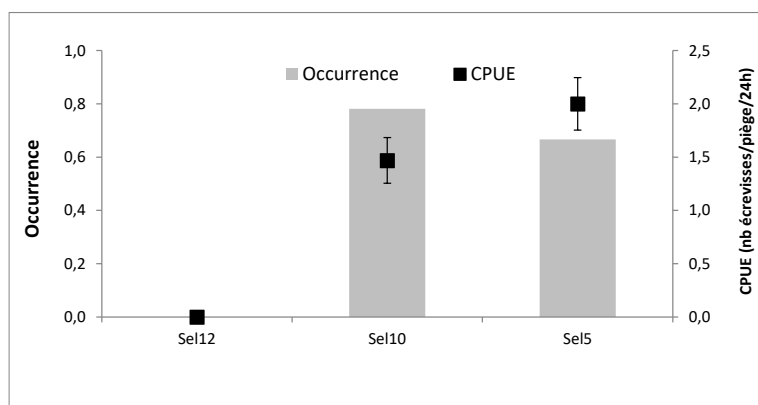
Les résultats de la campagne de printemps 2015 montrent que la structure trophique des communautés d'invertébrés de la Sélune varie fortement entre les sites (**Figure 9**). En amont (SEL10) et au début de la retenue de Vézin (SEL19), les communautés d'invertébrés sont largement dominées par les mangeurs de dépôts, essentiellement des Oligochètes et des larves de Chironomidés. Ce groupe trophique diminue progressivement vers l'aval pour être remplacés par les décomposeurs dans les retenues (SEL23 et SEL25) et sur la station en aval des retenues (SEL12). La très forte proportion relative des décomposeurs sur les sites des retenues est plus liée au déclin important des autres groupes tels que les mangeurs de dépôts qui diminuent d'un facteur 2 à 10 dans les retenues par rapport aux sites en amont. On remarque également que la structure trophique de la communauté d'invertébrés en aval des barrages (SEL12) est identique à celle de la station de la retenue de la Roche qui Boit (SEL25) mais avec une abondance 4 fois plus forte en invertébrés. Bien que ce site en aval retrouve une forte abondance en invertébrés, même légèrement supérieure à celle du site le plus en amont, la structure trophique de la communauté d'invertébrés est profondément modifiée par rapport à l'amont des barrages. L'influence des barrages est donc très forte sur la structure trophique des communautés d'invertébrés, se

prolongeant à l'aval alors que les conditions hydrologiques sont plus proches de celles du site en amont des deux barrages.

Le traitement des échantillons collectés en automne 2014 et 2015 devra permettre d'affiner les changements de structure trophique des communautés et de vérifier l'effet de la saison. Les conditions environnementales et particulièrement la température de l'eau sont sous l'influence des barrages, cela pourrait modifier la production d'invertébrés par accélération de cycles de développement pouvant conduire à des émergences précoces. Ces modifications pourraient impacter la structure des communautés automnales qui dépendent en grande partie de l'émergence et de la reproduction des communautés du printemps. Ces liens pourront être confirmés par le suivi saisonnier sur plusieurs années (2014, 2015, 2016) afin d'étudier plus finement la succession des communautés.

#### iv) **Les écrevisses** (Jean-Marc Paillisson, Ecobio)

Le travail se concentre sur l'espèce invasive la plus présente sur le bassin versant de la Sélune, l'écrevisse signal *Pacifastacus leniusculus*. Il s'agit de renseigner les contrastes entre les populations au sein du réseau de stations. L'échantillonnage a été réalisé au printemps 2015, sauf dans les stations des lacs de retenues (SEL19, SEL23, SEL25) où l'espèce n'est pas présente. Selon les stations, 30 à 33 pièges à écrevisses sans appât (L x l x h : 50x29x19 cm, grillage de maille 5,5 mm, à double-entrée, diamètre d'entrée de 4 cm) ont été installés pour une période de 24h. Deux informations principales sont présentées ici : les occurrences (proportions de pièges contenant des écrevisses) et les CPUE (captures par unités d'effort, soit le nombre d'écrevisses par piège/24h, moyenne  $\pm$  erreur standard). L'espèce n'est pas notée sur la station SEL12 à l'aval des retenues (**Figure 9**). Les occurrences sont sensiblement les mêmes dans les stations SEL10 et SEL5 (respectivement 0,78 et 0,67), en revanche les abondances sont plus fortes en SEL5.



**Figure 10.** Occurrence (% de pièges contenant au moins une écrevisse) et abondance (Capture Par Unité d'Effort, CPUE, en nombre d'individus par piège et par 24h) de l'écrevisse signal dans les 3 stations lotiques de la Sélune. Les barres verticales représentent les écarts-types autour des moyennes (pour les CPUE uniquement).

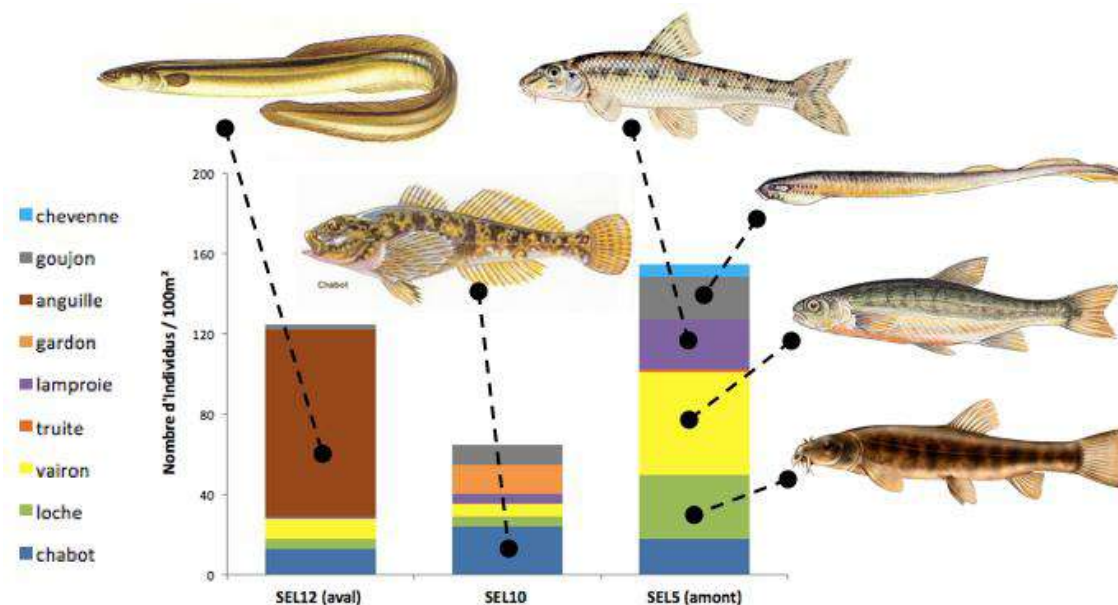
Les fortes populations d'écrevisses observées sur les stations amont (SEL5 et SEL10) suggèrent un impact de l'espèce sur le fonctionnement global des réseaux trophiques. L'analyse plus fine de l'influence potentielle de l'écrevisse sur les réseaux trophiques intégrera les stations des affluents, permettant d'aborder un gradient plus large d'abondances en écrevisses. L'analyse de la structure des populations d'écrevisses (classes de tailles, sexes) ne sera possible que lorsque les écrevisses, actuellement conservées au congélateur seront utilisées pour la préparation des analyses d'isotopes stables.

#### v) **Les communautés de poissons** (Jean-Marc Roussel, ESE)

Les communautés de poissons ont été décrites à partir d'inventaires par pêche électrique, réalisés au printemps et en début d'été 2015. Sur les stations lotiques du cours principal, la méthode des

EPA (échantillonnage ponctuel d'abondance) a été retenue. Il s'agit d'appliquer sur chaque station, en 20 points successifs choisis le long de diagonales d'une berge à l'autre, l'électricité pour tétaniser les poissons présents et les attraper à l'épuisette. Sur chaque point, l'anode électrisée est manœuvrée en légers mouvements circulaires, le rayon d'action de l'électricité garantissant l'échantillonnage de 4 m<sup>2</sup> autour de ce point. Sur le point, l'électricité est appliquée autant que nécessaire, par séquences successives d'environ 10 à 15 secondes, jusqu'à ce qu'aucun poisson ne soit plus attrapé. Lorsque les 20 points sont réalisés sur la station, les poissons capturés sont déterminés, mesurés et pesés, puis relâchés. Pour les besoins de l'analyse des isotopes stables, des prélèvements de poissons sont réalisés sur certains spécimens de chaque espèce.

Les résultats des abondances de poissons par station sont donnés **Figure 11**. Les 2 stations amont des barrages (SEL5 et SEL10) présentent des profils taxonomiques proches (hormis la présence du gardon ou du chevenne), mais les abondances sont 2 fois plus fortes sur la station SEL5. Comme attendu, aucune espèce diadrome n'est relevée sur ces stations à l'amont des barrages. La station aval des barrages SEL12 est largement dominée par l'anguille, dans les densités sont d'environ 1 individu par m<sup>2</sup>. Les résultats en terme de biomasse restent à analyser ; ils confirmeront que la station aval SEL12 est la plus productive en poissons. L'analyse des isotopes stables permettra de comprendre les différences de fonctionnement des réseaux trophiques entre l'amont et l'aval des barrages, et d'identifier les sources alimentaires des poissons sur ces stations.



**Figure 11.** Variations de densités des espèces de poissons présentes sur les 3 stations lotiques de référence pour caractériser les réseaux trophiques du cours principal de la Sélune.

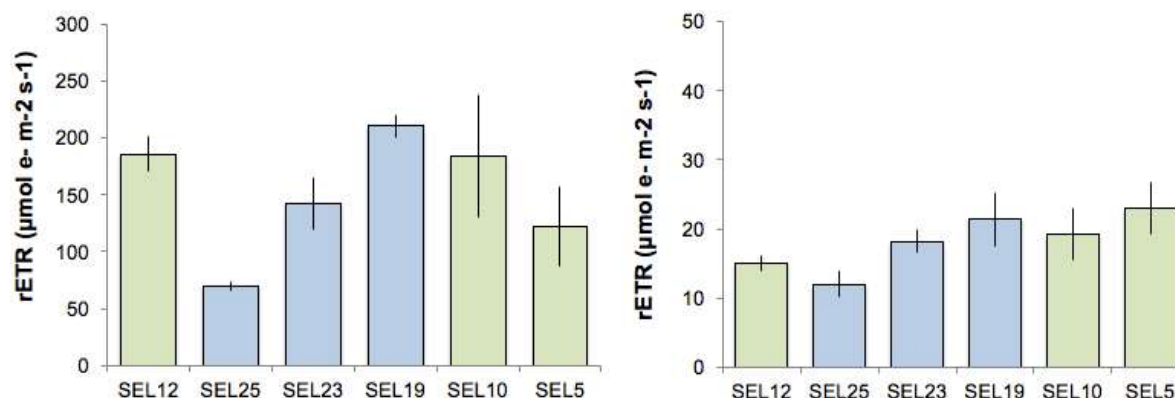
## 2- Activité photosynthétique (Alexandrine Pannard, Ecobio ; Caroline Gorzerino, ESE)

Ces travaux ont pour objectif de caractériser l'activité des producteurs primaires, une des sources d'énergie importante des réseaux trophiques. Pour chaque date et station en 2015, l'activité photosynthétique du biofilm et du phytoplancton a été mesurée grâce à un PhytoPAM (Phyto Pulse Amplitude Modulated), qui possède deux modules propres à chaque compartiment biologique. Le phytoPAM est un appareil utilisé pour mesurer l'activité photosynthétique par fluorescence, via le taux de transfert des électrons (ETR - Electron Transport Rate) entre les photosystèmes PSII et le PSI en fonction de la lumière. Il émet de la lumière d'intensité croissante et mesure la fluorescence émise. Il permet ainsi d'obtenir la relation entre intensité de la lumière et activité photosynthétique (flux d'électron entre les 2 photosystèmes). Les concentrations en carbone, azote et phosphore total



particulière dans l'eau ont été également mesurées, grâce à un analyseur de carbone (model 1010 with a 1051 auto-sampler; Bioritech, France) et un auto-analyseur (Brann and Luebbe, Axflow, France). Les rapports C/N et C/P de la matière organique en suspension ont ensuite été calculés.

L'activité photosynthétique du phytoplancton et du biofilm (**Figure 12**) varie de manière similaire entre les stations, avec un maximum à République (SEL19) et un minimum dans le barrage de la Roche qui Boit à Bel-Orient (SEL25). L'activité photosynthétique mesurée après les barrages augmente pour le phytoplancton et reste faible pour le biofilm (SEL12 correspondant au pont de Signy). Une diminution de l'activité photosynthétique a donc été observée dans les barrages que ce soit pour le biofilm ou pour le phytoplancton.



**Figure 12.** Activité photosynthétique moyenne du phytoplancton (gauche) et du biofilm (droite) sur les stations d'études. Les traits verticaux représentent les écarts types autour de chaque moyenne ; les barres bleues et vertes correspondent aux stations lenticques et lotiques, respectivement.

Les dosages du carbone organique dissous et particulaire dans l'eau sont en cours, ce qui permettra de calculer les rapports stœchiométriques de la matière organique. En mai 2016, les mesures d'activité photosynthétique au phytoPAM seront complétées par des mesures de fixation du carbone, afin de pouvoir établir une relation empirique entre flux d'électrons et fixation de carbone. Les spectres d'absorption de la chlorophylle du biofilm et du phytoplancton seront mesurés et analysés en fonction du groupes dominants (diatomées, chlorophycées, etc...). Les flux d'électrons pourront alors être calculés par unité de biomasse (et non unité de surface ou de volume comme c'est le cas pour l'instant).

### 3- Activité de dégradation de la matière organique (Christophe Piscart, Ecobio)

L'objectif de ce travail est de mesurer la capacité de l'écosystème aquatique à dégrader la matière organique que représentent les feuilles d'arbre tombées dans l'eau (litière). Il s'agit d'un indicateur fonctionnel de l'écosystème, une dégradation rapide et importante assurant le transfert de cette énergie vers les niveaux trophiques supérieurs (poisson notamment). L'activité de dégradation correspond à deux mécanismes agissant en synergie, la fragmentation par les macroinvertébrés benthiques et la dégradation par des champignons microscopiques.

Des mesures de vitesse de dégradation de litière d'aulne ont été mises en place en mars 2015, grâce à des dispositifs expérimentaux placés dans l'eau. Il s'agit de pochettes grillagées d'une vingtaine de cm, contenant des feuilles d'arbre sèches en quantité contrôlée, et permettant ou empêchant leur accès par les invertébrés benthiques selon la taille des mailles utilisées. Après un temps d'immersion de plusieurs semaines, ces pochettes sont normalement récupérées et au laboratoire, les litières restantes sont séchées et pesées. Des prélèvements sont également fait pour des estimer l'activité de dégradation fongique par dosage de l'ergostérol.

La baisse importante de la hauteur d'eau (> 1m) dans les retenues ayant mal été anticipée, une partie des dispositifs expérimentaux a été perdue ou exondée en 2015, rendant les résultats inexploitable. L'expérience sera refaite en Mars 2016 en prenant en compte les très fortes variations de niveau

d'eau possibles sur certaines stations. En 2015, le travail a néanmoins pu être fait sur les stations en affluents (voir Partie III-3).

#### 4- **Analyse des réseaux trophiques** (Jean-Marc Roussel, ESE ; Jean-Marc Paillisson, Ecobio)

L'objectif de ce travail est double. Il s'agit d'une part, d'identifier les sources d'énergie et les voies de transfert de cette énergie dans les réseaux trophiques de l'écosystème aquatique, d'autre part de spécifier le positionnement trophique de certaines espèces clés (poissons migrateurs, espèces invasives). La démarche repose sur l'utilisation de 2 méthodes complémentaires, l'analyse des isotopes stables de carbone et de l'azote dans les tissus des organismes aquatiques, et l'analyse de l'ADN présent dans les contenus stomacaux des espèces clés. La seconde méthode, appelée barcoding alimentaire, est plus récente dans ce type d'investigations ; à ce titre la réussite de sa mise en œuvre est incertaine et passe obligatoirement par une phase de mise au point préalable (voir Partie I-5).

Sur les stations lotiques du cours principal de la Sélune, des prélèvements de sources alimentaires de base (matière organique sédimentée, litière de feuilles mortes) ont été réalisés en 2015 (printemps et début d'été), pour compléter les prélèvements de végétaux et d'animaux aquatiques faits lors des inventaires floristiques et faunistiques de 2015 (Partie I-1). Une attention particulière est portée sur l'écrevisse signal, dont on suppose qu'elle tient un rôle centrale dans le fonctionnement des réseaux trophiques où elle est présente. Au total, environ 350 échantillons du cours principal de la Sélune sont actuellement en préparation au laboratoire (nettoyage, lyophilisation, pesés et encapsulation en feuilles d'étain) pour être envoyés au premier semestre 2016 au prestataire extérieur (University of New Brunswick, Canada). L'analyse des isotopes stables du carbone et de l'azote sera alors réalisée par spectrométrie de masse atomique. Les résultats seront connues au second semestre 2016 ; leur analyse et interprétation sera faite en 2017.

#### 5- **Mise au point du Barcoding** (Dominique Barloy, Jean-Marc Roussel, ESE)

Cette méthode d'étude des relations prédateur/proies (ou plus largement consommateur/sources) repose sur l'analyse moléculaire des contenus stomacaux des consommateurs, en ciblant particulièrement l'écrevisse signal. L'espèce étant détritivore, son rôle dans la dégradation de la matière organique végétale est important, mais elle peut également se nourrir de proie animales (invertébrés, peut-être aussi les jeunes stades). Dans un premier temps, il s'agit de caractériser la taxonomie et de prélever des échantillons des macrophytes, bryophytes et plantes de berges présentes sur les sites du cours principal de la Sélune. Ces échantillons doivent permettre de constituer une base moléculaire (DNA Barcode) de référence pour la caractérisation du régime alimentaire de l'écrevisse.

Les prélèvements de végétaux ont été réalisés sur les stations SEL5, SEL12 et SEL15 du cours principal (17 espèces), et sur les stations IVR1, DOU2, DOU3, GEU2, GEU3, GEU4, CHE1, CHE4 en affluents (47 espèces). Il s'agit des taxa suivantes :

- i) pour les algues : *Batrachospermum sp.*, *Lemanea sp.*, *Melosira sp.*, *Oedogonium sp.*, *Phormidium sp.*, *Vaucheria sp.*
- ii) pour les bryophytes : *Fontinalis antipyretica*, *Octodicerias fontanum*, *Amblystegium fluviatile*, *Amblystegium riparium*, *Brachythecium rivulare*, *Chiloscyphus polyanthos*, *Porella pinnata*, *Rhynchostegium riparioides*, *Riccardia sinuata*, *Scapania undulata*, *Thamnum alopecurum*
- iii) pour les phanérogames : *Apium nodiflorum*, *Callitriche obtusangula*, *Fraxinus excelsior*, *Lycopus europeus*, *Myriophyllum alterniflorum*, *Polygonum hydropiper*, *Populus nigra*, *Potamogeton alpinus*, *Ranunculus penicillatus*, *Sambucus nigra*, *Scrophularia auriculata*, *Acer cf campestre*, *Alnus glutinosa*, *Apium nodiflorum*, *Callitriche hamulata*, *Callitriche (cf) platycarpa*, *Corylus avellana*, *Crataegus monogyna*, *Digitalis purpurea*, *Dryopteris filix mas*, *Eupatorium cannabinum*, *Fagus sylvatica*, *Fissidens crassipes*, *Glyceria fluitans*, *Hedera helix*, *Ilex aquifolium*, *Iris pseudacorus*, *Juncus effusus*, *Mentha aquatica*, *Phalaris arundinacea*, *Quercus robur*, *Ranunculus penicillatus*, *Rosa canina*, *Rubus fruticosus*, *Salix atropurpurea*, *Salix sp.*, *Sambucus nigra*, *Solanum dulcamara*, *Symphytium officinale*, *Ulex europeus*.

Après prélèvement, les échantillons ont été vérifiés au laboratoire (observations loupe/microscope) puis lavés et stockés au congélateur à -20°C en attente d'extraction des ADNs. La mise au point d'extraction d'ADN est en cours au laboratoire. En 2016, la réalisation de la banque de référence DNA Barcode sera réalisée à partir de ces échantillons. Pour cela, les extractions des ADNs de toutes les plantes prélevées seront effectuées. Quatre barcodes utilisées chez les plantes seront testées à travers différentes amorces et les plus intéressantes seront utilisées pour obtenir les séquences permettant de caractériser les espèces étudiées. En parallèle, les écrevisses prélevées sur les

stations d'inventaire seront disséquées au laboratoire pour extraire leur contenu digestif, en vue de la recherche de l'ADN des plantes, des invertébrés aquatiques (omnivorie) voire des poissons (prédation sur les jeunes stades).

Important : un premier essai de barcoding alimentaire a été réalisé par notre équipe dans le cadre d'un autre projet qui se termine. Il vient de donner des résultats, qui sont malheureusement peu encourageants. Ils révèlent des contaminations d'ADN lors des opérations à la pailasse (prélèvements des contenus digestifs et/ou d'extraction de l'ADN). Il est probable que les conditions requises pour la préparation des échantillons de barcoding alimentaire ne soient pas présentes dans le laboratoire dont nous disposons actuellement. Ce constat questionne sur notre capacité à mener à bien un travail de qualité sur le barcoding alimentaire dans le projet RT. L'arrêt de ce travail est actuellement discuté.

### **Partie III. Sur les 8 stations pilote en affluents**

	2014		2015	
	S1	S2	S1	S2
<b>8 stations pilote sur 5 affluents de la Sélune</b>				
1- Etude des communautés végétales et animales			X	
2- Activité photosynthétique	initialement pas prévu		X	
3- Dégradation de la matière organique				X
4- Analyse des réseaux trophiques (isotopes stables et barcoding alimentaire), prélèvements			X	
<b>Travaux en laboratoire</b>				
Tri et détermination taxonomique			X	X
Préparation des échantillons pour l'ergostérol		X report	X report	X report
Préparation des échantillons pour les isotopes		X report	X	X
Dosage C, N et P dans les végétaux		X report		X rattrapage
Préparation et analyse de barcoding alimentaire			X report	X report
Analyse de l'ergostérol (prestation externe)				X report
Analyse des isotopes stables (prestations externes)				X
<b>Interprétation des résultats</b>			X	X
<b>Valorisation</b>				

#### **1- Etude des communautés végétales et animales en place** (collectif ESE et Ecobio).

Le travail a pour objectif de décrire les biocénoses aquatiques, végétales et animales, en place sur les 8 stations pilote choisies. Il s'appuie sur des inventaires réalisés à partir des méthodes spécifiques aux différents groupes taxonomiques et conventionnellement utilisées dans ce type de travail. Il doit permettre la caractérisation des communautés, d'un point de vue structurel (détermination taxonomique, abondance, biomasse) et fonctionnel (production primaire, dégradation de la matière, production secondaire, organisation trophique, fonctionnement des réseaux trophiques). Les éléments de méthodes communs à l'étude des stations du cours principal sont disponibles dans la partie précédente (Partie II) et ne sont pas réécrits ici.

##### **i) Les communautés végétales aquatiques** (Julie Coudreuse, ESE)

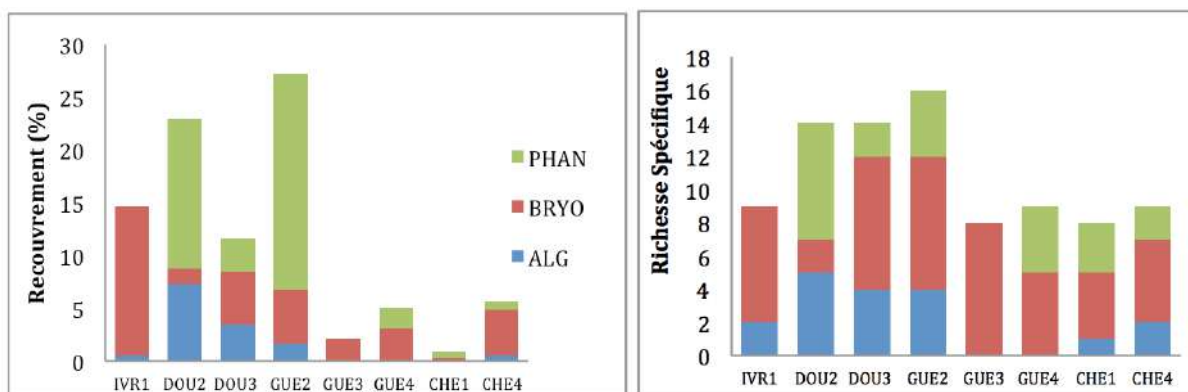
Les conditions abiotiques sont caractéristiques des têtes de bassin versants : des écoulements globalement dominés par des zones lotiques (radiers et plats courants), peu profonds, peu éclairés (25% en moyenne de zones découvertes par la ripisylve) et présentant un substrat de fond dominé par les substrats stables (70% de cailloux et blocs). Les stations ont été positionnées de manière à minimiser les variations de ces conditions du milieu. La végétation aquatique y est relativement abondante (10 espèces en moyenne) pour un recouvrement plutôt faible (10%) (**Figure 13**). La répartition est globalement équilibrée en terme de représentation des groupes taxonomiques, avec une légère dominance des bryophytes (*Rhynchostegium riparioides*, *Amblystegium riparium* et *Fissidens crassipes* principalement). La dominance de ce groupe est l'une des caractéristiques de la végétation de tête de bassins versants, ces derniers étant tolérant à l'ombrage et favorisés sur les systèmes lotiques à substrats stables.

De plus, le développement des bryophytes est principalement conditionné par la présence de substrat stable et d'écoulements rapides (oxygénants) ce qui explique leur faible abondance sur les stations présentant les écoulements les plus lents (GUE4, CHE1 et CHE4). Le site de l'lvret (IVR1), seul site présentant des substrats stables sur tout le linéaire, peu éclairé limitant donc le développement des phanérogames, présente justement le plus fort recouvrement en bryophytes. L'influence du gradient amont/aval est également illustrée par la plus forte abondance des phanérogames (principalement *Callitriche hamulata*) sur les stations les plus larges, plus proches de la confluence au cours principal de la Sélune (DOU2, DOU3, GUE2, GUE4). Cette influence aval est liée à l'augmentation de l'éclairement direct sur le lit du cours d'eau, qui est déterminant pour le développement des phanérogames et de la plupart des algues. Ainsi, les abondances plus

fortes de ces groupes sont trouvées sur les stations les plus éclairées : Dou2 (60% d'éclairage), Dou3 (40% d'éclairage), Gue2 (30% d'éclairage).

En terme de productivité, la simple analyse de l'abondance totale des peuplements peut être trompeuse. La croissance des bryophytes est lente mais les peuplements sont pérennes ; les algues et phanérogames présentent une croissance plus forte sur la période printemps-automne mais diminue en hiver. Ainsi, la production primaire est probablement plus importante la Douenne (DOU2 et DOU3) et l'aval de la Gueuche (GUE2) que sur l'Ivret (IVR1), alors que les recouvrements végétaux toutes catégories confondues (bryophytes, phanérogames, algues) y sont les plus fortes (15 à 25% au total, **Figure 13**).

Les communautés macrophytiques vues par l'Indice Biologique Macrophytique en Rivière (pour plus de détails, voir le sous-thème « Biomonitoring et Qualité Biologique » de la convention AESN-CNRS n°1053864) révèlent une tendance à la dystrophie sur les ruisseaux de la Douenne et de Chenilly. Cette tendance s'exprime par la perte d'espèces polluo-sensibles et le développement des espèces polluo-résistantes comme *Amblystegium riparium* (bryophyte ammoniaco-tolérante) et de vauchéries (algues), probablement en lien avec une altération de la qualité physicochimique de l'eau sur l'aval de ces affluents.



**Figure 13.** Répartition des différents groupes taxonomiques de macrophytes sur les affluents de la Sélune en 2015, selon l'abondance (à gauche, pourcentage de recouvrement sur la station) et la richesse spécifique (à droite, nombre d'espèces).

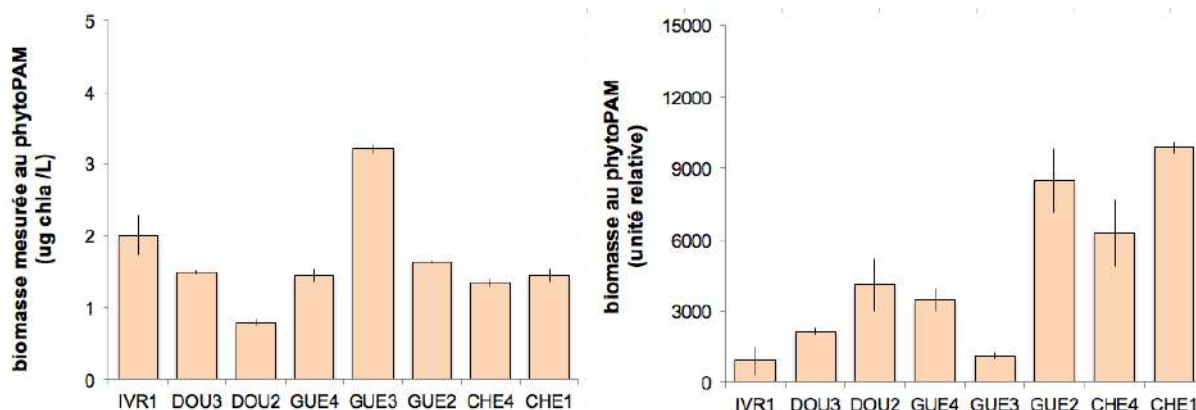
**ii) Les communautés planctoniques et biofilms** (Alexandrine Pannard, Ecobio ; Caroline Gorzerino, ESE)

Pour l'étude du biofilm dans les affluents, nous avons mis en place en mai 2015 des supports métalliques au fond du lit de chacune des stations, comprenant des lames de microscope en verre comme support de développement (**Figure 14**). Puis le même mode opératoire que pour les cagettes du cours principal a été suivi un mois après immersion (physico-chimie, concentrations en nitrates, phosphates et silicates, biomasses de phytoplancton, structure des communautés, prélèvements pour analyses isotopiques).



**Figure 14.** Supports avec lames en verre posés dans le lit des affluents.

Après 1 mois de colonisation, les supports et les lames ont été récupérés. Le biofilm était parfois très fin, voire inexistant. Lorsque cela était possible, du biofilm était raclé et récupéré pour les analyses isotopiques. Sur les lames, des mesures au Phyto-PAM ont été réalisées. Enfin, des substrats naturels (pierres, cailloux) ont été brossés pour récupérer du biofilm supplémentaire pour analyses isotopiques.



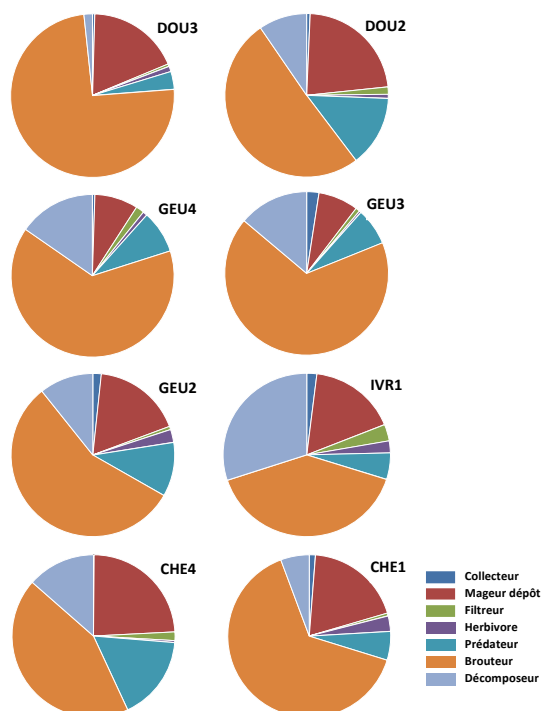
**Figure 15.** Biomasses du phytoplancton (gauche) et du biofilm (droite) sur les stations d'études. Les traits verticaux représentent les écarts types autour de chaque moyenne.

Les concentrations de phytoplancton restent globalement très faibles avec moins de 2  $\mu\text{g chla /L}$  (Figure 15). Sur ces têtes de bassin versant très lotique, seule la présence d'étangs connectés aux affluents pourrait induire un ralentissement et éventuellement aboutir à des concentrations plus élevées de chlorophylle. La biomasse de biofilm est également plus faible que dans les barrages. Même sur substrat naturel, le biofilm était peu abondant, avec de plus fortes biomasses sur les stations aval d'affluents. Les plus fortes abondances en biofilm ont été observées sur les stations de Chenilly et de la Gueuche 2. On remarque que la Gueuche, seul affluent échantillonné sur 3 stations, montre une forte variabilité inter-stations des biomasses de biofilm et de phytoplancton.

L'analyse des communautés présentes dans le biofilm et dans le phytoplancton est en cours. En 2016, les opérations seront renouvelées mais en utilisant des briques équipées de lames de microscope, pour pallier à la fragilité et au manque de stabilité des supports précédents.

### iii) Les communautés d'invertébrés aquatiques (Christophe Piscart, Ecobio)

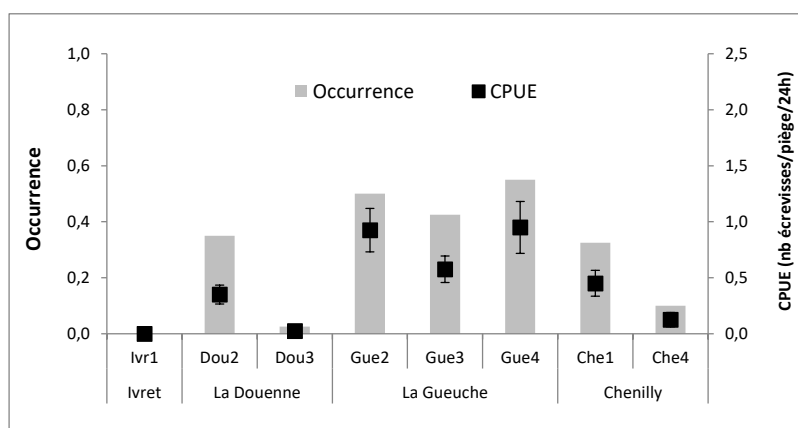
Les structures trophiques des communautés d'invertébrés sur les affluents sont relativement similaires entre stations localisées sur les mêmes affluents mais les différences entre affluents peuvent être relativement importantes (Figure 16). En particulier, la station IVR1 présente une structure trophique très différente de celles des autres affluents, avec une proportion plus forte de décomposeurs. Cela s'explique probablement par le fait que la station IVR1 est la seule à se trouver entièrement en forêt où les apports en matière organique détritique (litière) sont donc plus importants. De façon générale, toutes les autres stations ont une très forte abondance de brouteurs et de mangeurs de dépôts, ce qui correspond bien au type de communauté que l'on s'attend à avoir dans des petits cours d'eau en zone de polyculture et élevage.



**Figure 16.** Proportions relatives des principales guildes trophiques des communautés d'invertébrés sur les huit stations des affluents en Mars 2015.

**iv) Les écrevisses** (Jean-Marc Paillisson, Ecobio)

L'échantillonnage des écrevisses sur affluents a été réalisé dans les mêmes conditions que celles du cours principal de la Sélune. L'effort de piégeage a été légèrement augmenté puisque 40 à 43 pièges ont été installés à chacune des stations. L'effort a été redoublé à la station DOU3 en raison de la capture de seulement deux individus lors d'une première journée de piégeage réalisés avec 40 nasses.



**Figure 17.** Occurrence (% de pièges contenant au moins une écrevisse) et abondance (Capture Par Unité d'Effort, CPUE, en nombre d'individus par piège et par 24h) de l'écrevisse signal dans les 8 stations sur les affluents de la Sélune. Les barres verticales représentent les écarts-types autour des moyennes (pour les CPUE uniquement).

Comme attendu, l'écrevisse est absente sur l'Ivret et présente sur tous les affluents en amont (**Figure 17**) selon des gammes variables d'occurrence (0,03-0,55) et d'abondance (0,03-0,95 écrevisse/piège/24h). L'espèce est particulièrement abondante sur la Gueuche et d'importants

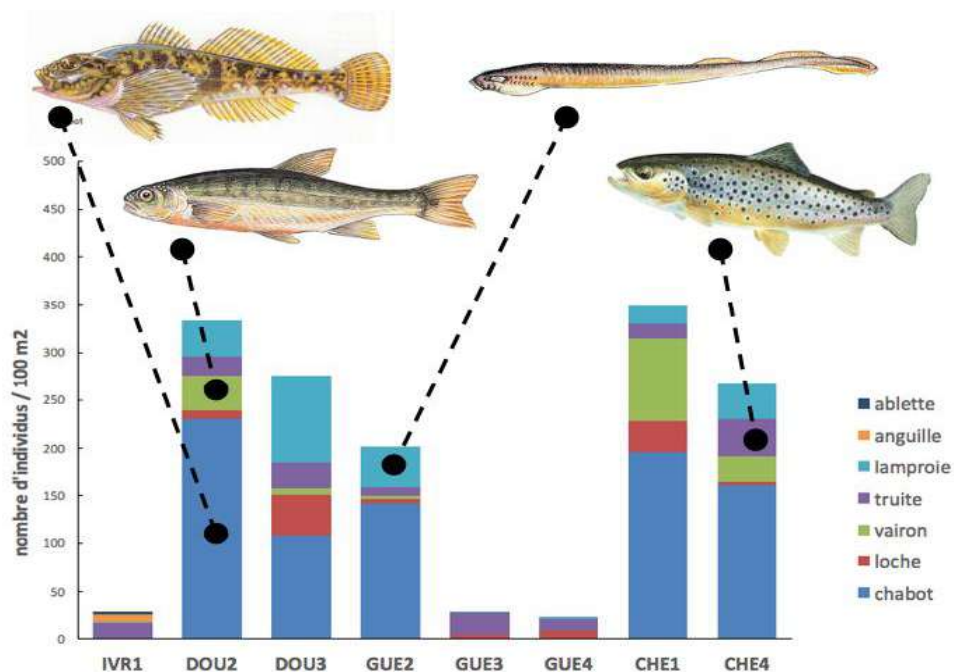
contrastes amont-aval sont notés sur la Douenne et le ruisseau de Chenilly. L'analyse de la structure des populations d'écrevisses sera réalisée dans un second temps une fois les écrevisses actuellement conservées au congélateur mobilisées pour l'analyse des isotopes stables et le barcoding alimentaire.

#### v) Les communautés de poissons (Jean-Marc Roussel, ESE)

L'échantillonnage des poissons en affluent a été réalisé en pêche électrique, mais contrairement au cours principal, la méthode dite par enlèvements successifs a été retenue. Sur chaque station, un secteur hétérogène en terme d'habitat (radier et profond) d'une longueur de 20 à 30 mètres a été délimité par des filets barrant la largeur du ruisseau en limite amont et aval. Puis 2 passages à l'électricité, espacés d'environ 20 minutes et sans remise des poissons, ont été réalisés d'aval vers l'amont. Cette méthode, impossible à pratiquer dans le cours principal du fait de la largeur, a l'avantage de permettre une estimation plus précise de la densité des espèces de poisson.

Les résultats des abondances de poissons par station sont donnés **Figure 18**. Le chabot est l'espèce qui domine en abondance. Lorsqu'il est absent, les densités sont très basses sur les stations de la Gueuche amont (GUE3 et GUE4) et de l'Ivret (IVR1). On remarque aussi la présence de la truite sur toutes les stations, en abondance plutôt faible. L'anguille, la seule espèce amphihaline dans les inventaires, est présente uniquement sur l'Ivret. Les données biométriques (classes de tailles et biomasse) restent à considérer.

L'analyse des isotopes stables permettra de comprendre les différences de fonctionnement des réseaux trophiques entre les affluents, ces tendances seront à relier avec les résultats obtenus sur les autres groupes taxonomiques, l'activité photosynthétique ou encore la dégradation de la matière organique.



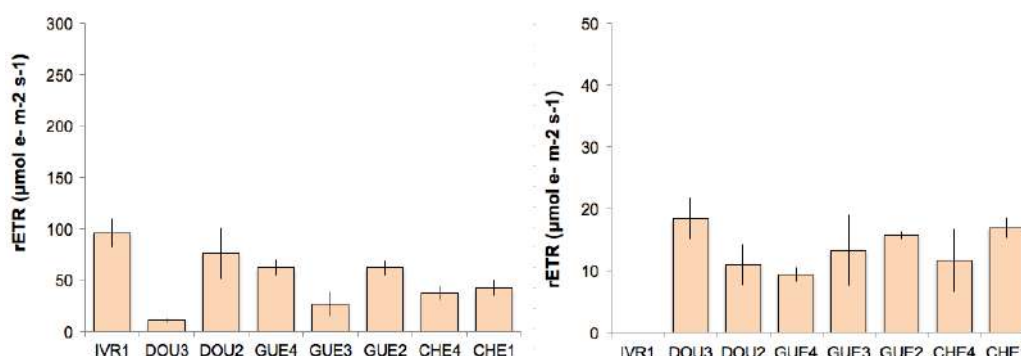
**Figure 18.** Variations de densités des espèces de poissons présentes sur les 8 stations lotiques de référence pour caractériser les réseaux trophiques des affluents de la Sélune.



## 2- Activité photosynthétique (Alexandrine Pannard, Ecobio ; Caroline Gorzerino, ESE)

L'activité photosynthétique du phytoplancton et du biofilm (**Figure 19**) varie en fonction des affluents, mais également des stations sur un même affluent. Les stations aval présentent en général une activité photosynthétique plus élevée que les stations amont, comme par exemple la Douenne pour le phytoplancton et La Gueuche pour le biofilm. La station de l'Ivret (IVR1) présente une activité photosynthétique maximale pour le phytoplancton et minimale pour le biofilm (inférieure aux limites de détection, en raison d'une quasi absence de biofilm). A l'inverse, la station DOU3 (amont) présente une activité photosynthétique dominée par l'activité du biofilm.

Les dosages du carbone organique dissous et particulaire dans l'eau sont en cours, ce qui permettra de calculer les rapports stœchiométriques de la matière organique. En 2016, les opérations seront renouvelées mais en utilisant des briques équipées de lames de microscope, pour pallier à la fragilité et au manque de stabilité des supports précédents ; des mesures complémentaires seront réalisées.



**Figure 19.** Activité photosynthétique moyenne du phytoplancton (gauche) et du biofilm (droite) sur les stations d'études. Les traits verticaux représentent les écarts types autour de chaque moyenne.

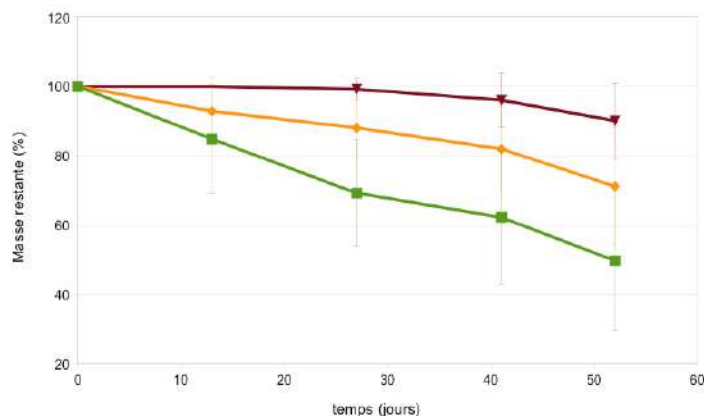
## 3- Activité de dégradation de la matière organique (Christophe Piscart, Ecobio)

Dans le cadre du stage de Master 2 de Sylvestre Rivière, une étude de la dégradation de litière a été conduite de Janvier à Mars 2015 sur les huit stations retenues sur les affluents. Pour chacune, nous avons utilisé trois essences forestières différentes (aulne glutineux, châtaignier et chêne pédonculé) afin de tester leur dégradabilité. Une première estimation des vitesses de dégradation a été faite entre Janvier et Février 2015, par la méthode des sacs de litière à l'aide de sacs grillagés ayant des vides de maille de 5 mm de diamètre et rempli d'un mélange équilibré de ces trois litières.

Les cinétiques de dégradation des différentes essences de feuilles montrent des différences marquées (**Figure 20**). L'aulne connaît la dégradation la plus rapide, avec 50% ( $\pm 22$ ) de masse perdue en moyenne au bout des 51 jours de dégradation. Le châtaignier a une dégradation intermédiaire avec 29% ( $\pm 17$ ) de masse perdue au bout des 51 jours. Enfin, les masses de feuilles de chêne ne commencent à diminuer qu'après le 27<sup>ème</sup> d'immersion, pour atteindre seulement 6% ( $\pm 6$ ) de masse perdue après 51 jours de dégradation. Les différences de vitesse de dégradation observées sont en grandes parties liées à la cinétique de conditionnement dont on mesure les effets aux différentes dates l'évolution des structures biomécaniques (la dureté et l'épaisseur) des feuilles. Toutefois, des mesures complémentaires sont attendues en 2016 (composition en C, N, P des feuilles, dosages ergostérol) pour confirmer ces premiers résultats.

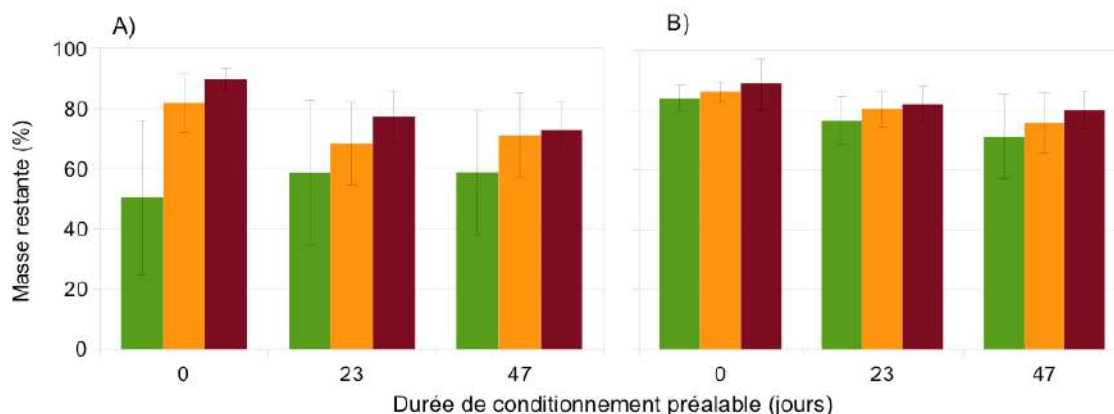
Une seconde expérience a été réalisée entre Février et Mars 2015 afin de mesurer l'effet de la durée du conditionnement (temps passé dans l'eau pour que les microorganismes colonisent les feuilles avant de mesurer leur dégradation). Pour cela, les trois types de feuille ont été préalablement conditionnés sur chaque site pendant 0, 23 et 47 jours dans des sacs à mailles fines (0.5mm) afin d'être naturellement colonisés par les microorganismes. Pour chaque type de feuille et pour les trois durées de conditionnement, la vitesse de dégradation des feuilles a été mesurée séparément dans les sacs utilisés dans l'expérience 1 (5mm) pour obtenir la vitesse de décomposition totale (invertébrés + micro-organismes) mais aussi dans des sacs à mailles fines (0.5mm) pour mesurer la vitesse de

dégradation par les micro-organismes uniquement. En parallèle, la biomasse des invertébrés décomposeurs a été estimée sur chaque site à l'aide de quatre prélèvements d'invertébrés avec un filet Surber (0.05m<sup>2</sup>) afin de corrélérer le taux de dégradation de la litière et la biomasse en invertébrés décomposeur.



**Figure 20.** Evolution des masses de feuille au cours du temps (moyenne  $\pm$  écart type), pour les feuilles d'aulne (en vert), de châtaignier (en orange) et de chêne (en rouge) pendant la période d'étude.

Les résultats montrent que la durée du conditionnement préalable des feuilles à un effet différent selon l'essence (**Figure 21**). Ainsi, la dégradation de l'aulne après 21 jours reste similaire pour les différents conditionnements préalables (t<sub>0</sub>, t<sub>1</sub> et t<sub>2</sub>). A l'inverse, les dégradations du châtaignier et du chêne sont plus importantes pour des feuilles conditionnées que pour des feuilles non conditionnées. L'écart du taux de dégradation entre les types de feuilles tend à diminuer avec l'augmentation de la durée de conditionnement préalable, et deviennent similaires à 47 jours de conditionnement préalables.



**Figure 21.** Masse de feuille restante (moyenne  $\pm$  écart type), pour les feuilles d'aulne (vert), de châtaignier (orange) et de chêne (rouge), après 21 jours de dégradation en présence (A) ou en absence (B) d'invertébrés, selon 3 durées de conditionnement préalable (t<sub>0</sub> = sans conditionnement, t<sub>1</sub> = 23 jours et t<sub>2</sub> = 47 jours).

Ces deux expériences ont permis de montrer que le recyclage des litières, processus majeur dans la structuration des réseaux trophiques et des communautés d'invertébrés benthiques, est fortement influencé par le type de litière. En effet, les deux processus à la base du recyclage (le conditionnement par les micro-organismes et la dégradation) sont fortement influencés par le type de litière. Ces résultats confirment l'hypothèse selon laquelle une diversité fonctionnelle de la ripisylve, en termes de structure biomécanique des feuilles, permet un étalement de la période de biodisponibilité

de la ressource après l'abscission des feuilles. En effet, les feuilles tendres (aulne) peuvent être rapidement consommées par les invertébrés alors que les autres ne seront disponibles qu'après quelques semaines (châtaignier) voir quelques mois (chêne). Un mélange de ces feuilles permet ainsi d'assurer un apport durable en ressources nutritives jusqu'au printemps suivant et le développement du biofilm et des plantes aquatiques. La suppression de certaines de ces ressources pourrait donc avoir d'importantes conséquences sur les communautés de décomposeurs, et par cascades trophiques le long des chaînes alimentaires jusqu'aux poissons.

Pour 2016, de nouvelles mesures de vitesses de décomposition seront réalisées en mars en utilisant les mêmes feuilles d'aulne que celles utilisées en 2015 afin de tester la variabilité annuelle du taux de décomposition des litières. La composition élémentaire des feuilles devrait également être mesurée afin de convertir les taux de décomposition des litières en flux de nutriment pour l'écosystème.

#### **4- Analyse des réseaux trophiques** (Jean-Marc Roussel, ESE ; Jean-Marc Paillisson, Ecobio)

Il s'agit d'identifier les sources d'énergie et les voies de transfert de cette énergie dans les réseaux trophiques de l'écosystème aquatique, puis de spécifier le positionnement trophique de certaines espèces clé (poissons migrateurs, espèces invasives). La démarche repose sur l'analyse de isotopes stables de carbone et de l'azote dans les tissus des organismes aquatiques, et sur l'analyse des l'ADN présent dans les contenus stomacaux de espèces clé. La mise en œuvre de la seconde méthode (barcoding alimentaire) passe par une phase de mise au point (voir Partie I-5).

Sur les 8 stations des affluents choisis, les prélèvements de sources alimentaires de base (matière organique sédimentée, litière de feuilles d'arbre) ont été réalisés en 2015 (printemps et début d'été), pour compléter les prélèvements de végétaux et animaux aquatiques faits lors des inventaires floristiques et faunistiques de 2015 (Partie III-1). Au total, c'est près de 800 échantillons qui sont actuellement en préparation au laboratoire (nettoyage, lyophilisation, pesés et encapsulation en feuilles d'étain) pour être envoyés au premier semestre 2016 au prestataire extérieur (University of New Brunswick, Canada). L'analyse des isotopes stables du carbone et de l'azote sera alors réalisée par spectrométrie de masse atomique. Les résultats seront connues au second semestre 2016 ; leur analyse et interprétation sera faite en 2017.

## Rapport d'avancement 2016

## **Effets de l'arasement des barrages sur le fonctionnement des réseaux trophiques**

### **Avancement des travaux 2016**

#### **UMR ESE Ecologie et Santé des Ecosystèmes (INRA / Agrocampus-Ouest à Rennes)**

Julie Coudreuse, Caroline Gorzerino, Dominique Huteau, Eric Petit, Maxime Poupelin,  
Jean-Marc Roussel

#### **UMR ECOBIO Ecosystèmes, Biodiversité, Evolution (CNRS/Université Rennes 1)**

Guillaume Bouger, Jean-Marc Paillisson, Alexandrine Pannard, Christophe Piscart

#### **Rappel du contexte du projet**

Le projet « Réseaux Trophiques » (« projet RT » par abréviation dans la suite du document) a l'ambition de considérer, dans un ensemble large, les différentes composantes des biocénoses aquatiques et rivulaires de la Sélune, des sources à l'estuaire. Sans focaliser sur un groupe taxonomique ou une communauté d'espèces en particulier, la démarche vise à étudier les interactions entre ces composantes, des microorganismes aux poissons, avec pour objectif principal de comprendre les relations trophiques (« qui mange quoi »). Les interactions trophiques sous-tendent en grande partie les équilibres (et les déséquilibres) que l'on peut observer au sein des écosystèmes. Décrivant le fonctionnement des écosystèmes, ce type d'approche sur les réseaux trophiques est souvent qualifiée de fonctionnel. Dans le cas présent, le projet RT doit permettre de comprendre les équilibres trophiques actuels dans les écosystèmes aquatiques, des têtes de bassin versant à l'estuaire, puis de suivre les modifications engendrées par la restauration des continuités écologiques, et notamment les nouveaux équilibres qui s'installeront au sein des biocénoses aquatiques.

Les recherches menées dans le projet RT apporteront des réponses aux questions génériques suivantes : quelles conséquences ont les opérations de démantèlement de barrages sur les biocénoses aquatiques en place, leurs interactions et le fonctionnement des écosystèmes aquatiques, des têtes de bassin versant à l'estuaire ? Comment l'écosystème rivière se restaure-t-il à l'emplacement précis d'un ancien lac de barrage ? Quels sont les rôles de certaines espèces clés (notamment les poissons amphihalins et les espèces invasives) dans les nouveaux équilibres de l'écosystème cours d'eau reconnecté à l'océan ?

#### **Rappel des objectifs généraux**

Durant la période 2014-2018, avant l'ouverture de l'hydrosystème aux migrateurs amphihalins, deux objectifs sont particulièrement visés par le projet RT dans sa configuration initiale. Il s'agit :

- 1- d'établir, avant les opérations de vidange, un état de lieux des réseaux trophiques et du fonctionnement des écosystèmes aquatiques sur le fleuve (hors estuaire) et les affluents,
- 2- d'étudier, à partir des opérations de vidange, la mise en place des nouveaux équilibres trophiques dans les néo-habitats d'eau courante.

#### **Partenaires scientifiques impliqués et évolution**

Le projet RT regroupe 9 personnes de deux Unités Mixtes de Recherche : Ecologie et Santé des Ecosystèmes (INRA-Agrocampus Ouest à Rennes) et Ecobio (CNRS-Université de Rennes). Il a débuté de manière effective au troisième trimestre 2014 avec le recrutement d'un assistant ingénieur, Maxime Poupelin, dont le rôle est de mener les campagnes d'échantillonnage sur le terrain, de contribuer à la préparation des échantillons et au rendu des résultats.

Deux évolutions importantes touchant le périmètre du projet ont eu lieu en 2016 :

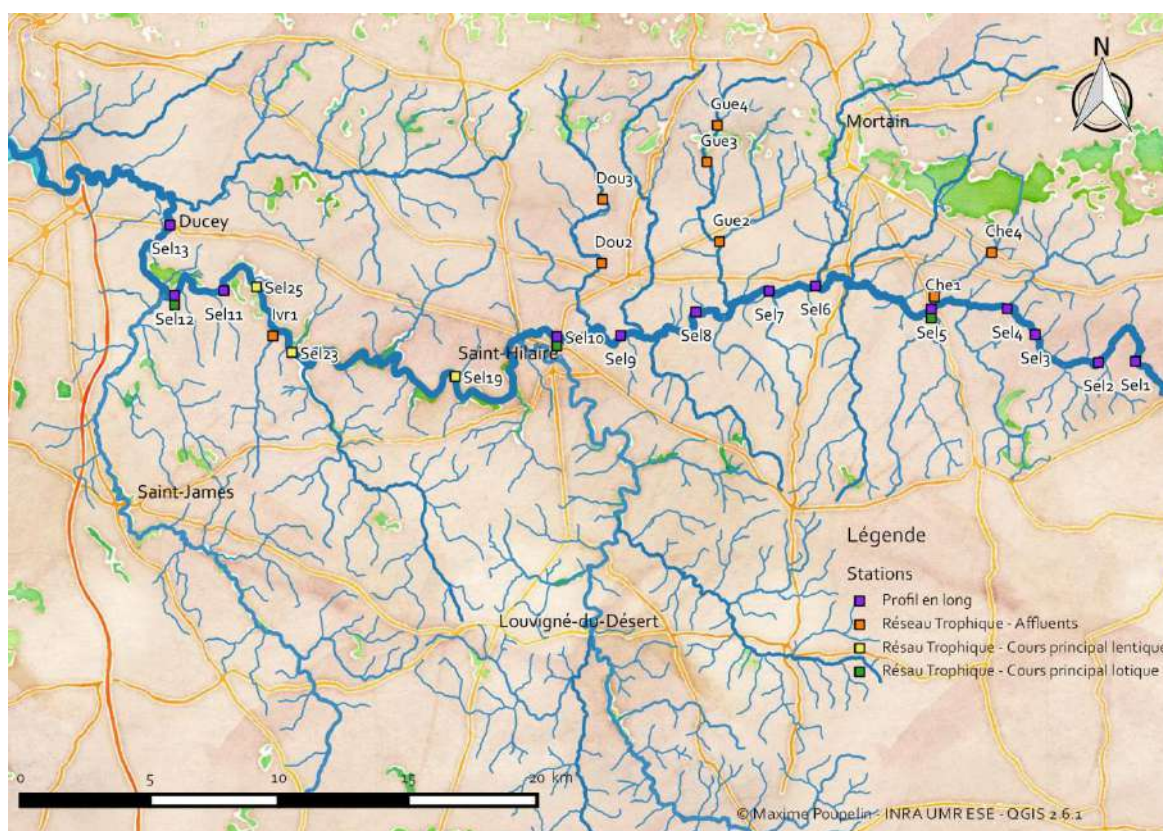
- 1- Suite aux difficultés techniques rencontrées en 2015, l'approche moléculaire des relations trophiques (barcoding alimentaire) est abandonnée. Cependant, les conséquences sur l'avancement du projet sont minimales. En effet, le barcoding alimentaire était surtout envisagé comme un complément innovant de l'approche classique par analyses de isotopes stables. Les efforts vont donc être reportés sur la méthode classique, qui avance de manière satisfaisante par ailleurs.
- 2- Une extension de l'aire d'étude à l'estuaire est programmée. Deux nouveaux partenaires, Ifremer Dinard et Agrocampus-Ouest, ont proposé un projet sur les communautés benthiques de l'estuaire et de la Petite Baie, qui comprend l'étude des réseaux trophiques dans ces habitats. Le projet a été retenu pour financement par l'AESN (convention N° 1066356-1), et doit commencer au printemps 2017. Bien que sur 2 conventions différentes, les travaux des projets en rivière et en estuaire seront coordonnés et les informations potentiellement complémentaires qu'ils apporteront pourront faire l'objet de comparaisons.

### **Organisation du rapport 2016**

Ce rapport d'avancement du projet RT ne reprend que les résultats et faits marquants de l'année 2016. Il s'organise de la même manière que le rapport 2015, en 3 parties successives qui correspondent aux travaux menés :

- Partie I.** A l'échelle de l'hydrosystème entier
- Partie II.** Sur 6 stations pilotes du cours principal
- Partie III.** Sur 8 stations pilotes en affluents

La carte présentée ci-dessous (**Figure 1**) reprend l'ensemble des stations échantillonnées dans les 3 parties du projet RT (profil en long, réseaux du cours principal, réseaux des affluents).



**Figure 1.** Les principales stations d'études retenues depuis 2014 pour le projet « réseaux trophiques ».

Pour suivre l'avancement des travaux, chaque partie débute par un tableau qui rappelle les livrables attendus. Dans ces tableaux, une croix verte signifie que le livrable annuel est accompli, une croix

orange qu'il est en cours (léger retard par rapport aux prévisions), une croix rouge qu'il n'a pas été réalisé (décalage de programmation). Ensuite pour chaque partie, les résultats obtenus en 2016 sont présentés sous une forme synthétique et illustrative, mettant en avant les principales avancées et conclusions du projet RT pour l'année écoulée. La valorisation scientifique est indiquée dans des encadrés au fil du texte.

### **Point budget fin 2016**

La convention AESN-INRA n° 1 050 492 couvre la période de juillet 2014 à juillet 2019. Un budget total de 295 427 € est réparti sur deux laboratoires, INRA (UMR ESE, Rennes) d'une part et CNRS (UMR Ecobio, Rennes) d'autre part. Les dépenses cumulées par poste jusqu'en 2016 inclus sont présentées sur les graphiques ci-dessous.



## Partie I. A l'échelle de l'hydrosystème Sélune

	2014		2015		2016	
	S1	S2	S1	S2	S1	S2
<b>Echelle hydrosystème Sélune</b>						
1- Profil isotopique de référence	X		X ajout		terminé	
2- Essai détectabilité par ADNe	X report	X report	X rattrap.	X rattrap.	X	X
3- Distribution spatiale écrevisse signal			X	X	X	terminé
<b>Travaux en laboratoire</b>						
Préparation des échantillons isotopes		X	X	X	X	X
Préparation et analyse de barcoding alimentaire			X report	X report	annulé	
Analyse des isotopes stables (prestations externes)				X	X	X
<b>Interprétation des résultats</b>						
<b>Valorisation</b>				X	X	X

### 1- **Profil isotopique de référence** (Jean-Marc Roussel, ESE ; Maxime Poupelin, ESE).

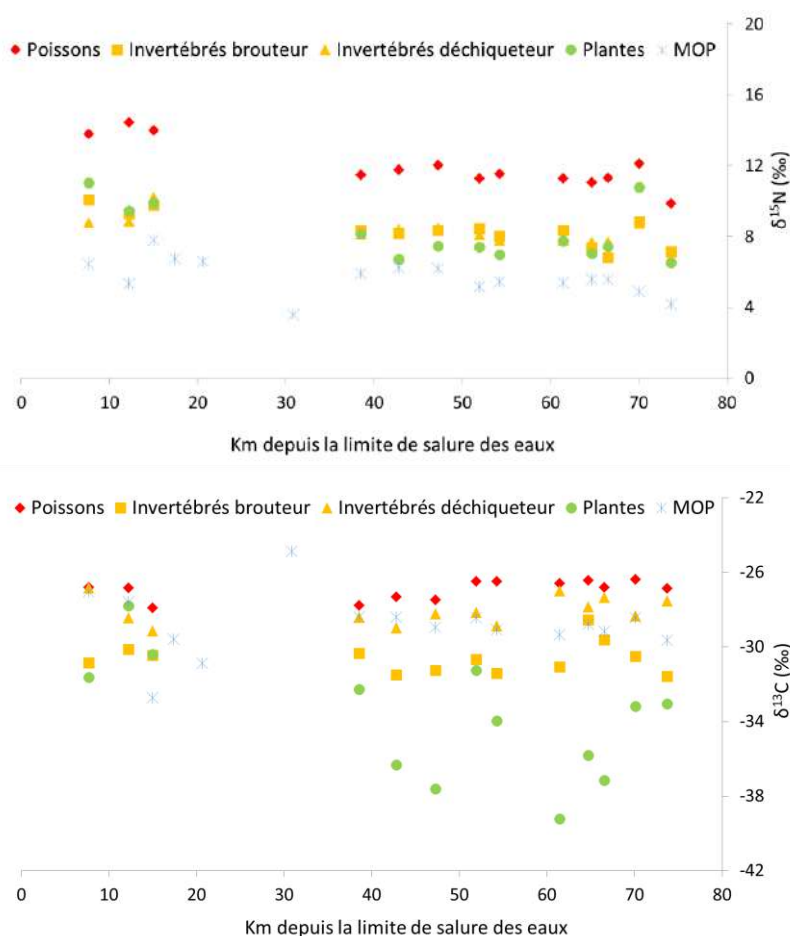
L'analyse des isotopes stables dans les organismes aquatiques est l'une des méthodes retenues pour étudier les réseaux trophiques et leur fonctionnement dans le projet RT. En effet, les variations de proportion des isotopes stables lourds et légers dans les tissus des organismes permettent détecter l'origine de l'énergie qui alimente les réseaux trophiques, et de retracer les chaînes alimentaires en indiquant le niveau trophique des organismes. Ici, l'objectif du travail est de fournir un état de référence isotopique des biocénoses aquatiques sur le cours principal de la Sélune, le long d'un profil allant de la source à la limite amont de l'estuaire, avant la remise en continuité par enlèvement des barrages. Deux campagnes d'échantillonnage de poissons, invertébrés et plantes aquatiques ont été faites en 2014 et 2015 sur les 13 stations (voir la carte Figure 1). En 2016, des prélèvements complémentaires ont été fait sur les mêmes stations et 3 stations supplémentaires dans les lacs (Sel25, Sel23, Sel19) pour échantillonner la Matière Organique Particulaire (MOP) par filtration d'eau.

Les résultats isotopiques (Figure 2) montrent une nette différence dans les proportions isotopiques du carbone et de l'azote entre les consommateurs primaires (invertébrés) et les consommateurs secondaires (poissons), ce qui est conforme aux attentes. Ces différences le long des chaînes alimentaires sont assez similaires quelques soit la station le long du gradient amont-aval. Pour le carbone, malgré de fortes variations des valeurs entre les stations de l'amont des barrages, les résultats indiquent une assez bonne stabilité des signaux isotopiques sur le gradient amont-aval. A noter une valeur très élevée dans le prélèvement de MOP dans le lac de Vezins au niveau du Pont de la République, suggérant une forte activité photosynthétique par le phytoplancton. Pour l'azote, la discontinuité isotopique entre l'amont et l'aval des barrages est bien marquée, les valeurs étant systématiquement enrichies à l'aval. Cela suggère que les chaînes alimentaires à l'aval des barrages sont alimentées par des nutriments azotés d'origine différente.

A ce stade, deux hypothèses peuvent être avancées pour expliquer cette discontinuité isotopique sur l'azote : 1- il s'agit d'un effet lié à la présence des deux lacs, desquels diffuseraient des nutriments azotés enrichies en isotopes lourds, 2- cet enrichissement a une origine marine et il serait le résultat d'une accumulation d'isotopes lourds de l'azote sous le barrage aval. S'il est pour l'instant difficile de choisir l'une ou l'autre des hypothèses, celle d'une discontinuité de propagation vers l'amont (2-) des nutriments d'origine marine est très plausible. Elle peut être étayée par une littérature abondante sur le rôle des espèces amphihalines dans la dispersion de nutriments et d'énergie de l'océan vers les écosystèmes aquatiques continentaux. Si cette hypothèse est bonne, on devrait assister à une augmentation du signal isotopique de l'azote à l'amont des barrages après ouverture. Dans ce cas, le profil isotopique amont-aval, tel que mis au point dans ce travail, se révélera être un outil performant pour détecter et quantifier les discontinuités océan-cours d'eau dans le contexte des fleuves côtiers.

Roussel J.M. Stable isotope continuums as a tool to trace eutrophication processes from headwaters to estuaries. 4ème Journées Internationales de Limnologie et d'Océanographie. Saint-Malo (France) 27-29 septembre 2016.





**Figure 2.** Proportion (‰, axes des ordonnées) en isotopes lourds du carbone (graphique du bas, notation conventionnelle  $\delta^{13}\text{C}$ ) et de l'azote (graphique du haut, notation conventionnelle  $\delta^{15}\text{N}$ ) dans les organismes aquatiques collectés sur le cours principal de la Sélune (été 2014 et 2015) à différentes stations, depuis la limite de salure des eaux (notée KM zéro en abscisse) jusqu'à la source. Des prélèvements de matière organique particulière (MOP), réalisés en 2016, ont également été analysés par filtration d'eau, y compris dans les deux lacs.

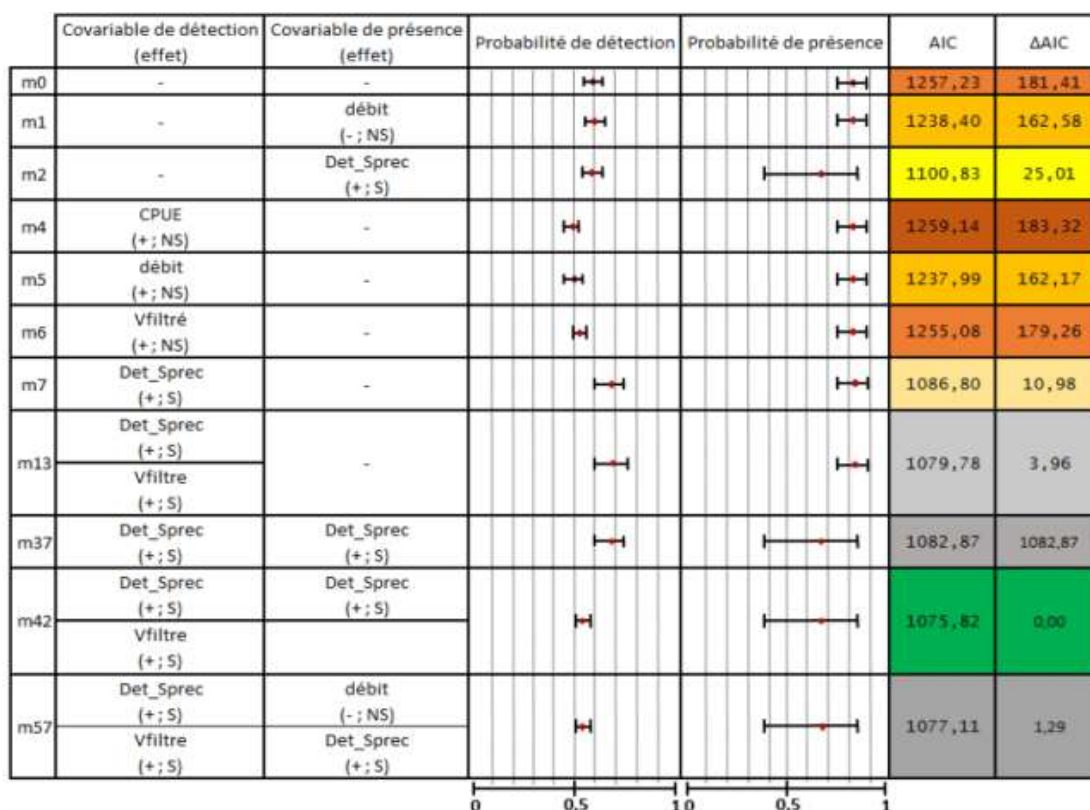
2- **Essais de détectabilité par ADN environnemental** : mise au point d'un protocole pour l'écrevisse signal (Eric Petit, ESE ; Anne-Laure Besnard, ESE ; Maxime Poupelin, AI CDD ; Nicolas Macel, M2)

Des techniques classiques (piégeage, pêche électrique) ont démontré que l'écrevisse signal est principalement présente en amont de la retenue de Vezins, alors qu'elle semble absente ou rare dans les affluents qui se jettent directement dans les retenues ou en aval des barrages. Cette situation est susceptible d'évoluer avec la baisse des niveaux d'eau puis l'arasement des barrages, qui vont rendre ces zones accessibles à l'invasion, alors même que certaines d'entre elles abritent des populations relictuelles d'écrevisse à pattes blanches. Pour détecter les premiers signaux de ces modifications d'aire de distribution à l'échelle du bassin versant, le piégeage et la pêche électrique peuvent avantageusement être complétés par la détection d'ADN environnemental, un outil dont la mise en place a démarré en 2015 par la mise au point de marqueurs spécifiques de l'espèce et d'un protocole d'échantillonnage adapté au milieu lotique.

Les deux objectifs de l'année 2016 étaient (1) de terminer la mise au point d'un protocole de détection de l'écrevisse signal en milieu lotique à partir d'ADN issu d'échantillons environnementaux, et (2) d'appliquer ce protocole à un ensemble de stations échantillonnées sur la Sélune et ses affluents, pour obtenir une vision complémentaire de celle obtenue à partir du piégeage et des pêches sur la distribution de l'écrevisse signal sur le bassin versant. Ces travaux ont été principalement réalisés dans le cadre du stage de Master 2 de Nicolas Macel (Master « Environnement, Ecotoxicologie, Ecosystèmes » de l'Université de Lorraine).

Les échantillons récoltés en 2015 dans le cadre du stage de Marion Marlin (cf. Avancement des travaux 2015) ont été amplifiés par PCR quantitative avec un jeu d'amorces et une sonde spécifiques dessinés pour la détection de l'écrevisse signal à partir d'un alignement de séquences disponibles dans les bases de données internationales (GenBank). Nous avons en particulier vérifié la spécificité de ce protocole vis-à-vis de l'écrevisse à pattes blanches. Les premiers résultats ont démontré que les échantillons issus des sédiments n'apportaient pas d'information complémentaire par rapport aux échantillons prélevés dans la colonne d'eau, qui de ce fait ont été préférés pour la suite des analyses, car plus faciles à obtenir sur le terrain puis à filtrer en laboratoire. Les 420 échantillons issus de prélèvements dans la colonne d'eau ont chacun été amplifiés trois fois, afin de prévenir les faux négatifs liés à la stochasticité de l'amplification d'échantillons d'ADN faiblement concentrés. Les résultats de ces amplifications ont été analysés à l'aide de modèles d'occupation qui permettent d'estimer la probabilité de détecter l'écrevisse quand elle est présente, d'une part, et la probabilité de présence, d'autre part. L'analyse des échantillons de 2015 visait essentiellement à comprendre ce qui peut moduler les probabilités de détection, puisque tous les prélèvements ont eu lieu sur des cours d'eau qui accueillent l'écrevisse en plus ou moins forte densité.

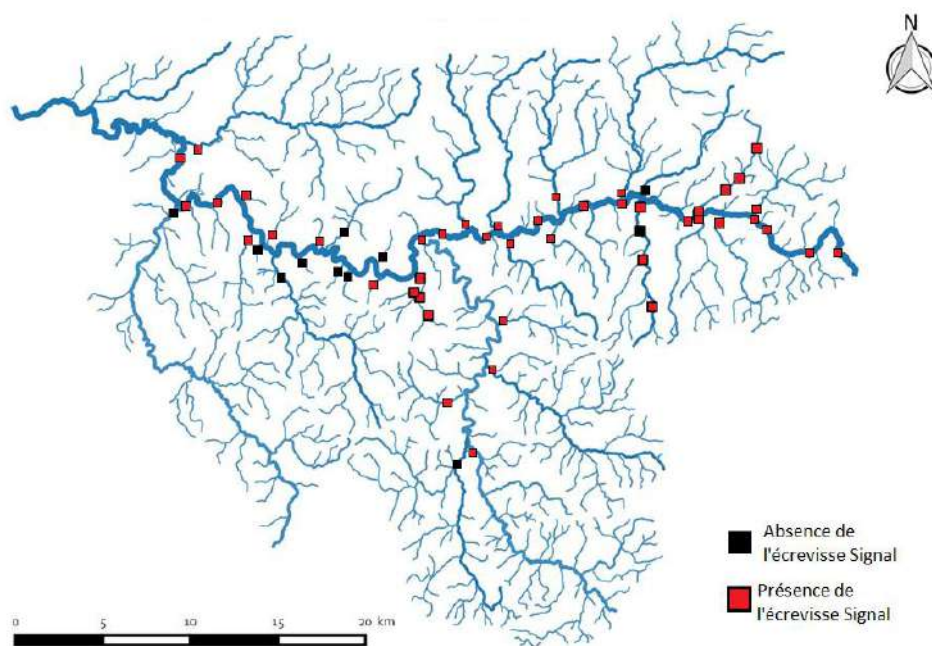
Les résultats des modèles statistiques (Figure 3) montrent que la probabilité de détecter l'écrevisse quand elle est présente et ce, à partir d'un échantillon pris dans la colonne d'eau, est de 0,55. Quatre échantillons ayant été prélevés à chaque station, la probabilité de détection par station était donc de  $1-(1-0,55)^4=0,959$ . Ces résultats montrent aussi que la détection de l'écrevisse en amont de la station échantillonnée augmente la probabilité de détection à cette dernière, ce qui suggère que l'ADN dévale le cours d'eau. Ces résultats sont corroborés par une analyse de l'influence des confluences, qui montre qu'en général une station située immédiatement à l'aval d'une confluence présentera un signal de détection positif quand au moins une des deux stations en amont de la confluence est elle-même positive. On note aussi que le meilleur modèle (m42) montre un effet du volume d'eau filtré sur la probabilité de détection, un résultat qui reste à conforter car ici lié à un des affluents échantillonnés.



**Figure 3.** Analyse statistique des probabilités de détection et probabilité de présence de l'écrevisse du Pacifique dans 4 stations du bassin versant de la Sélune à l'aide la fonction occu (package unmarked, R). Quelques modèles sont montrés ici, avec leur AIC. CPUE : Capture Par Unité d'Effort (indice d'abondance estimé par piégeage au site d'échantillonnage) ; débit : débit mesuré au point d'échantillonnage ; Vfiltré : volume d'eau filtré à partir duquel a été réalisé l'extraction d'ADN ; Det\_Sprec : détection de l'écrevisse signal sur le point d'échantillonnage situé immédiatement en amont du point d'échantillonnage considéré. +/- : effet positif/négatif sur la probabilité de détection/présence ; NS : non significatif ; S : significatif (estimation dont l'intervalle de confiance exclut 0).

Un protocole de détection de l'écrevisse signal par ADNe ayant pu être mis au point, nous l'avons testé grandeur nature sur 55 stations : (1) les 13 stations du profil en long de la Sélune (cf Figure 1), plus 28 stations situées juste en amont des confluences des principaux affluents de la Sélune ; (2) 5 stations supplémentaires situées sur l'Airon, principal affluent de la Sélune ; (3) 3 stations supplémentaires sur chacun des trois affluents suivants, caractérisés par des CPUE contrastées en écrevisse, à savoir le Vau Roux (CPUE=0), Mesnelle (CPUE=0,2) et Chenilly (CPUE=1).

Les résultats obtenus montrent une présence de l'espèce dans toutes les stations du cours principal de la Sélune, et dans la plupart des affluents échantillonnés, à l'exception des affluents qui se jettent directement dans les réservoirs (Fig.4). Un résultat étonnant est que les 4 prélèvements du Vau Roux montrent la présence de l'écrevisse signal, alors qu'elle n'avait pas été piégée dans cet affluent. Est-ce une invasion récente (les piégeages sont antérieurs aux prélèvements d'ADNe) ? Une plus grande sensibilité de la détection par ADNe dans certaines conditions ? Un apport d'ADN par des prédateurs ? Des investigations complémentaires sont à mener pour trancher entre ces différentes hypothèses. De la même manière, il reste à expliquer pourquoi l'espèce est détectée tout au long du cours de la Sélune, bien que sa présence ne soit pas avérée en aval, ou en de rares stations : la dévalaison de l'ADN est là encore peut-être facilitée par des transports liés à des déplacements de prédateurs de l'espèce, une question qui pourrait être tranchée en appliquant le protocole de PCR quantitative à des extraits d'ADN réalisés à partir de fèces ou de contenus digestifs de prédateurs potentiels.



**Figure 4.** Détection de l'écrevisse signal par PCR quantitative d'échantillons d'ADN issus de prélèvements d'eau dans 55 stations du bassin versant de la Sélune.

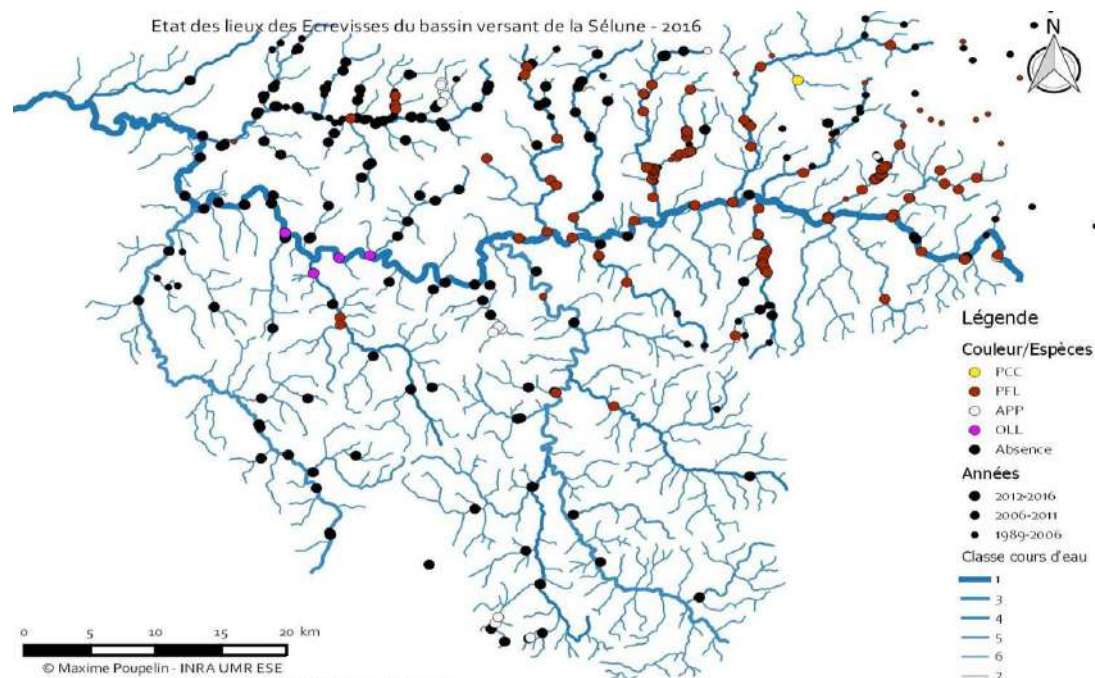
- Macel M. (2016). Etude de la distribution spatiale de l'écrevisse Signal sur le bassin versant de la Sélune : apport de l'ADN environnemental. Rapport de stage Master 2 Environnement Ecologie Ecosystèmes, université de Lorraine 1, 111p.
- Marlin M. (2015). Détection de macroinvertébrés en milieu lotique à partir d'analyses d'ADN environnemental : calibration de la méthode. Rapport de stage Master 1 PNB, université de Rennes 1, 20p.
- Roussel J.-M., Paillisson J.-M, Tréguier A., Petit, E. 2015, The downside of eDNA as a survey tool in water bodies, *Journal of Applied Ecology*, **52**: 823-826.

### 3- **Distribution spatiale des espèces d'écrevisse** (Jean-Marc Paillisson, Ecobio ; Maxime Poupelin, ESE; Valentin Mieuze, BTS Gestion et Protection de la Nature)

L'état des lieux de la distribution spatiale du peuplement d'écrevisses sur le bassin de la Sélune a été présenté dans le rapport d'étape 2015 de la convention « Dispersion et Recolonisation » (AESN-INRA n°1054505). Ce travail d'inventaire réalisé au tout début du projet a constitué une base essentielle pour la sélection des stations pilotes des affluents, et des travaux qui y sont développés, ainsi que celles relatives aux investigations sur l'ADN environnemental.

Les travaux conduits en 2016 ont eu pour objectif : 1- de compléter l'état des lieux de la distribution spatiale des écrevisses, se basant cette fois sur une enquête auprès de divers acteurs locaux, et 2- de poursuivre des travaux d'inventaire ciblés sur la seule espèce native du territoire, l'écrevisse à pattes blanches.

Il est indéniable que, malgré la campagne d'échantillonnage de grande envergure consentie en 2014 et consolidé en 2015, l'état des lieux sur la répartition des écrevisses reste incomplet. A l'occasion de l'Assemblée générale des partenaires du programme Sélune qui s'est tenu en décembre 2015, il a été émis le souhait de la part de certaines instances locales de contribuer à ce travail en transmettant leurs propres données d'observation, notamment au-delà des secteurs déjà inventoriés. Début 2016, un formulaire a donc été transmis à ces différents acteurs (ONEMA, Fédération de pêche de la Manche (50) et Ille-et-Vilaine (35), Syndicat de bassin versant,...) afin de cadrer le recueil de données (dates d'observation, méthodes d'inventaire, localités précises...). La carte produite tient compte de ces nouvelles données et en présente donc la synthèse (Figure 5). Il est ainsi noté que la propagation de l'écrevisse signal serait assez restreinte dans la partie Sud du bassin de la Sélune, secteur cependant très peu inventorié dans le cadre des échantillonnages que nous avons conduits. Bien évidemment, les méthodes d'investigation sont différentes, et la détectabilité des écrevisses est certainement différente selon ces méthodes. Le recours à la détection moléculaire des écrevisses (ADN environnemental) pourrait à terme constituer un outil d'inventaire consensuel applicable à large échelle.



**Figure 5.** Distribution des espèces d'écrevisses sur le bassin hydrographique de la Sélune : écrevisse de Louisiane (*Procambarus clarkii*, PCC) en jaune, écrevisse signal (*Pacifastacus leniusculus*, PFL) en rouge, écrevisse à pattes blanches (*Austropotamobius pallipes*, APP) en blanc, écrevisse américaine (*Orconectes limosus*, OLL) en violet, absence d'écrevisse en noir. Les dates des observations sont symbolisées par trois tailles de rond. Ne figurent pas sur cette carte les données de détection moléculaire de l'écrevisse signal (voir la Figure 4 pour cette information).

L'écrevisse à pattes blanche figure sur liste rouge de l'UICN où elle est considérée comme espèce en danger d'extinction et détient le statut d'espèce vulnérable en France. Probablement bien plus présente sur le bassin de la Sélune il y a 20-30 ans, elle serait désormais localisée à l'amont de certains affluents et menacée par la propagation de la peste des écrevisses, pathologie transmise par l'écrevisse signal. Un travail d'inventaire ciblé a été réalisé par Valentin Mieuzet (BTS GPN au lycée de Sées, 61) et Maxime Poupelin. L'objectif était de vérifier la présence de l'espèce où elle était décrite par le passé, ainsi que sur de nouvelles stations de petits cours d'eau *a priori* propices à l'espèce. Sur 41 stations échantillonnées dans 29 cours d'eau avec des pièges adaptés à la configuration des sites, l'espèce a été recensée dans 9 stations réparties sur 3 cours d'eau (voir la Figure 5) : le ruisseau de Vallée aux Berges (affluent de l'Oir), le ruisseau du Vaux roux (affluent de la Sélune), le ruisseau de la Hubaudière (affluent de la Glaine).

En regroupant toutes les informations à l'échelle du bassin entier de la Sélune, les populations d'écrevisse à pattes blanches sont présentes de manière certaine dans 5 cours d'eau, le Loup Pendu (affluent de la Glaine) et le ruisseau du Pilon (affluent de Chenilly) complétant la liste. Pour le Loup Pendu, l'écrevisse à pattes blanches observé lors d'une pêche électrique de la fédération de pêche d'Ille-et-Vilaine en 2013. En 2016, le piégeage n'a pas permis de capturer d'écrevisse à pattes blanches, ce qui veut dire que si elles n'y ont pas disparu, elles sont en très faible nombre. Le Pilon n'a pas été échantillonné par nos soins, le site est en périphérie d'un espace naturel protégé dont la gestion et le suivi de l'espèce est confié au Conservatoire des Espaces Naturels de Normandie. Cette étude non prévue au départ, pourra permettre également à l'avenir de tester la méthode par ADN environnemental pour cette espèce et de cibler certains secteurs témoins où l'absence d'écrevisse semble être confirmée.

Mieuzet V. (2017). L'écrevisse à pattes blanches ( <i>Austropotamobius pallipes</i> ), espèce encore présente sur le bassin de la Sélune ? Rapport de stage de BTS Gestion et Protection de la Nature, LEGTPA Sées, 64p.
Poupelin M., Paillisson J.-M., Petit, E. J., Roussel J.-M. (2015). Quelles écrevisses sur le bassin de la Sélune ? Programme scientifique Sélune. Bulletin d'information du bassin versant de la Sélune (15) , 6.

## **Partie II. Sur les 6 stations pilote du cours principal**

	2014		2015		2016	
	S1	S2	S1	S2	S1	S2
<b>6 stations pilote sur la Sélune</b>						
1- Etude des communautés végétales et animales	X report		X rattrap.	X	X	
2- Activité photosynthétique	X report		X rattrap.		X	
3- Dégradation de la matière organique	X report	X report	X rattrap.	X rattrap.	X	
4- Analyse des réseaux trophiques (isotopes stables et barcoding alimentaire), prélèvements	X report		X rattrap.		X	
5- Mise au point du barcoding alimentaire		X report	X rattrap.	annulé		
<b>Travaux en laboratoire</b>						
Tri et détermination taxonomique			X	X	X	
Préparation des échantillons pour l'ergostérol		X report	X report	X report	X	
Préparation des échantillons pour les isotopes	X report		X rattrap.	X	X	X
Dosage C, N et P dans les végétaux	X report		X rattrap		X	
Préparation et analyse de barcoding alimentaire			X report	X report	annulé	
Analyse de l'ergostérol (prestation externe)				X report	X report	
Analyse des isotopes stables (prestations externes)				X	X	X
<b>Interprétation des résultats</b>						
<b>Valorisation</b>						
			X	X	X	X

Le travail a pour objectif de décrire les biocénoses aquatiques, végétales et animales, en place sur les 6 stations de référence choisies. Il s'appuie sur des inventaires réalisés à partir des méthodes spécifiques aux différents groupes taxonomiques et conventionnellement utilisées dans ce type d'étude. Il doit permettre la caractérisation des communautés, d'un point de vue structurel (détermination taxonomique, abondance, biomasse), mais également fonctionnel. Dans ce dernier cas, des méthodologies spécifiques ont été mises en place pour évaluer l'activité photosynthétique par les producteurs primaires, la dégradation de la matière organique par les consommateurs primaires, et les principales interactions trophiques au sein des communautés aquatiques.

### **1- Les communautés végétales aquatiques** (Julie Coudreuse, ESE)

Les inventaires de macrophytes et bryophytes réalisées en 2015 étant suffisant, aucune nouvelle activité a été réalisée sur ce thème en 2016.

### **2- Les communautés planctoniques et biofilms** (Alexandrine Pannard, Ecobio ; Caroline Gorzerino, ESE)

Pour l'étude du biofilm, nous avons mis en place en 2016 comme l'année précédente des substrats artificiels pour les 6 stations du cours principal. Pour les stations situées en zone lentic (SEL19, SEL 23 et SEL 25, respectivement au Pont de la République, au Barrage de Vezins et au Barrage de la Roche qui Boit), un nouveau type de support (Figure 6) a été ajouté juste à côté de l'ancien système, afin de pouvoir réaliser des analyses complémentaires. L'activité photosynthétique a en effet été mesurée non seulement par fluorimétrie modulée via le phytoPAM, mais également par incorporation d'isotope lourds du carbone ( $^{13}\text{C}$ ) sous forme carbonates. Ces incubations nécessitent des lames plus petites que celles de l'ancien système, afin de pouvoir les immerger entièrement dans le traceur pendant l'incubation. Les substrats artificiels étaient maintenus près de la surface grâce à un système de radeau (Figure 6).

Pour les stations en milieu lotique (SEL 5, SEL 10 et SEL 12), il s'agit d'un dispositif similaire sur piquets et non sur radeau. Ce dispositif est décrit en section III.1.ii dans la partie 'affluents'.

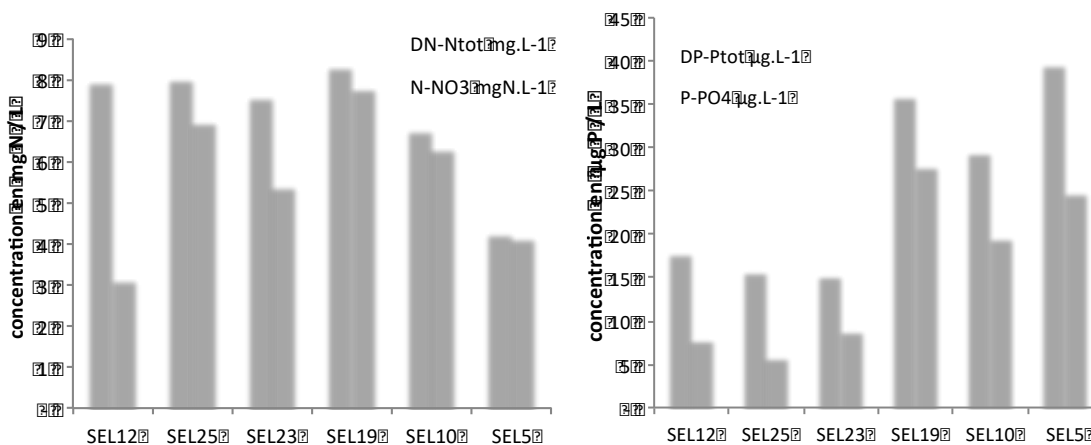


**Figure 6.** Système de radeau pour les stations lentiques, avec flotteurs et lames positionnées à 30 cm sous la surface, contenant chacun 2x 9 lames)

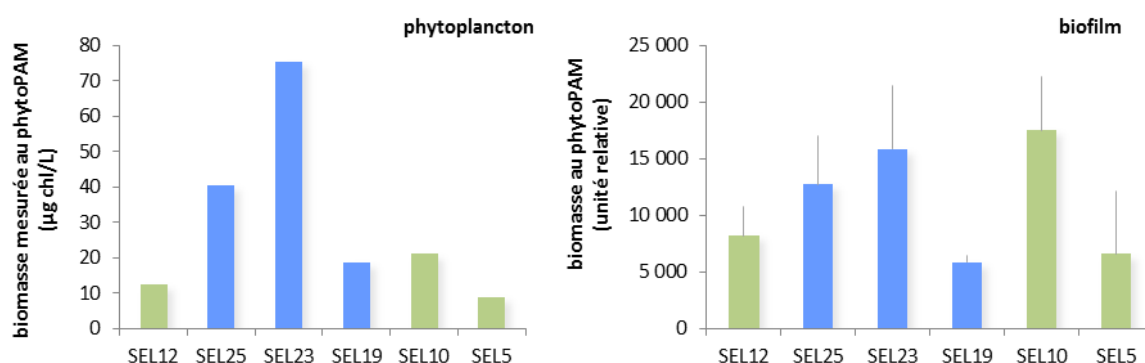
Ces différents supports ont été mis en place au mois de mai 2016 et retirés un mois plus tard. Lors de leur retrait en juin 2016, nous avons caractérisé les conditions physico-chimiques du milieu en termes de température, conductivité, pH, oxygène dissous et turbidité, grâce à des sondes multiparamétriques. Des prélèvements d'eau ont également été effectués afin d'analyser les concentrations en nitrates, phosphates et silicates, azote et phosphore total dissous et particulaires.

La biomasse de phytoplancton a été mesurée *in situ* grâce à une sonde de fluorescence (Idronaut), et *ex situ* par des mesures de fluorescence au phytoPAM et des dosages de chlorophylle *a* en laboratoire (méthode de Lorenzen, 1967). La structure des communautés phytoplanctoniques est également déterminée par les mesures au phytoPAM (Phyto Pulse Amplitude Modulated ; Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Allemagne), qui possède deux modules propres à chaque compartiment biologique (biofilm et phytoplancton). Cet appareil permet en effet de séparer 3 principaux groupes taxonomiques en assemblage mixte, en se basant sur leurs spectres d'absorption et d'émission aux longueurs d'ondes de la chlorophylle *a* et de pigments accessoires spécifiques à chacun de ces groupes. Il est ainsi possible de mesurer la biomasse et l'activité photosynthétique des GREEN, regroupant les chlorophytes, les BLUE, regroupant les cyanobactéries avec phycocyanine et les BROWN, regroupant les diatomées, les dinoflagellés et les chrysophytes. Les peuplements planctoniques ont également été fixés au lugol acide et conservés à l'obscurité et à 4°C, jusqu'au comptage au microscope optique pour confirmation de la structure des communautés.

Pour le biofilm, les lames ont été retirées des systèmes après 1 mois de colonisation. Certaines lames ont alors été raclées pour une partie des analyses (poids sec sans cendre, chlorophylle *a*, étude des communautés) alors que d'autres ont été utilisées telles quelles pour réaliser des mesures au phytoPAM : mesure de l'activité photosynthétique (voir point 2.), estimation de la chlorophylle *a* et caractérisation des 3 groupes taxonomiques (GREEN, BLUE et BROWN), comme pour le phytoplancton. La mesure du poids sec sans cendre (AFDM) est réalisée au laboratoire après un passage à l'étuve (72h, 105°C) puis au four sans cendre (1h, 500°C) et permet d'estimer la quantité de matière organique présente dans le biofilm pour chaque station.



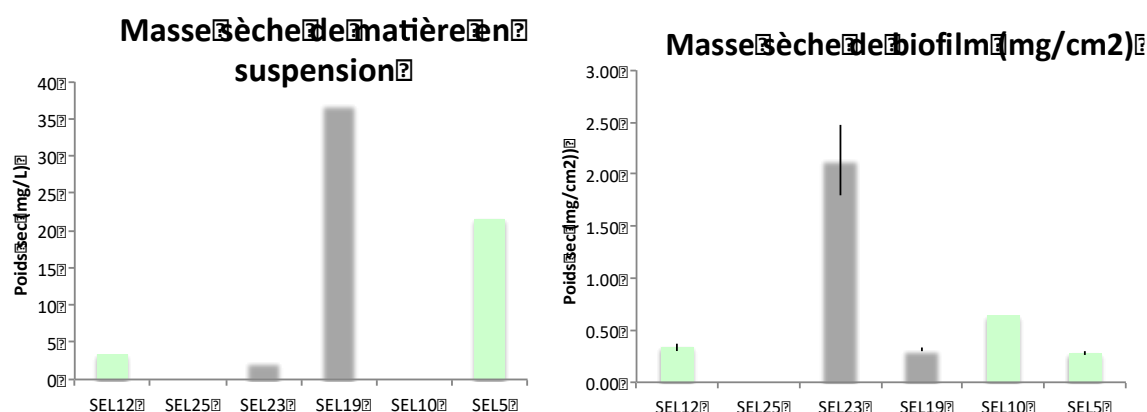
**Figure 7.** Concentration en nutriments aux différentes stations : (a) concentration en nitrates et azote total dissous et (b) 11 concentrations en orthophosphates et phosphore total dissous.



**Figure 8.** Biomasses mesurées par le phytoPAM pour le phytoplancton (gauche) et le biofilm (droite) sur les stations d'études. Les traits verticaux représentent les écarts types autour de chaque moyenne ; les barres bleues et vertes correspondent aux stations lenticques et lotiques, respectivement.

Un abattement des concentrations en orthophosphates et en phosphore total dissous est observé dans les lacs de barrage (SEL23 et SEL25) et à l'aval des barrages (SEL12) (Figure 7). Une tendance semble se retrouver pour les nitrates, mais pas pour l'azote total dissous (Figure 7). En 2016, la biomasse de phytoplancton était importante au niveau des lacs de barrage (stations SEL23 et SEL25 ; Figure 8) alors que la station de la zone de transition zone lenticque/zone lotique SEL19 (Pont de la République) avait une biomasse plus faible semblable à celle des stations lotiques.

Selon le PhytoPAM, le biofilm s'est développé de façon plus importante au niveau du Barrage de La Roche qui Boit (SEL25) et à St Hilaire (SEL10) alors que la biomasse de biofilm la plus faible a été observée à SEL 19 (Pont de la République) (Figure 8). Au pont de la République (SEL19), les biomasses de phytoplancton et de biofilm sont généralement faibles par rapport aux autres stations, en lien avec une forte turbidité de la masse d'eau et donc une limitation en lumière. Les lacs de barrage, et en particulier celui de Vezins, sont favorables au développement du phytoplancton, mais également au biofilm. En effet, le faible courant réduit la contrainte de cisaillement au niveau du biofilm et donc l'arrachage de biomasse, tandis que la disponibilité en nutriments et en lumière est favorable à sa croissance. La station de Saint-Hilaire (SEL10) présente une forte biomasse de biofilm, ce qui sera à mettre en lien avec les conditions hydrologiques et d'ensoleillement sur les jours et semaines précédents. Les données météo France vont donc être analysées.

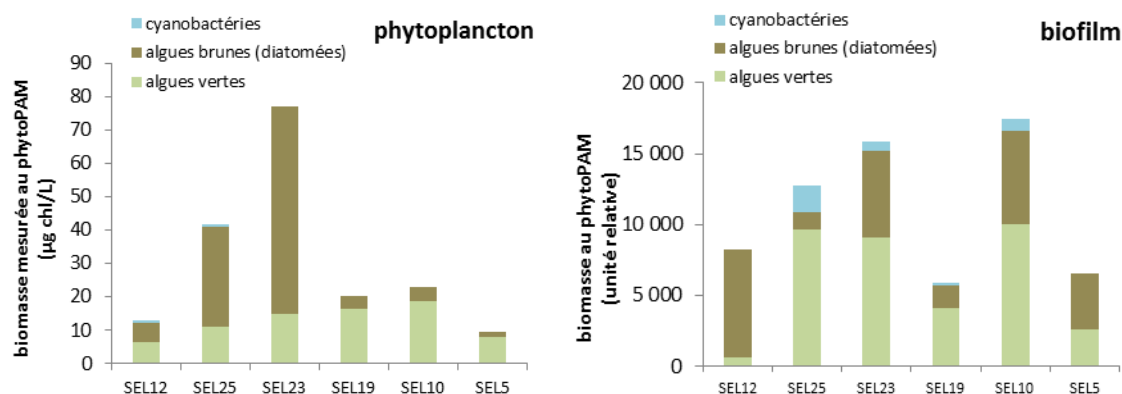


**Figure 9 :** Masse sèche en suspension dans la colonne d'eau et masse sèche de biofilm, sur les stations du cours principal.

Les analyses de masse sèche du biofilm montrent la même tendance que les mesures de biomasses au phytoPAM (Figure 9). Les matières en suspension (MES) incluent quant à elles à la fois la biomasse de phytoplancton et l'ensemble de la matière organique et inorganique transportée par les affluents. Les MES sont très élevées en amont des barrages (SEL 5 et SEL 19), avec des concentrations supérieures à 20 mg/L (Figure 9). Les résultats du phytoPAM montrent une dominance du phytoplancton par les diatomées dans les barrages et par les algues vertes aux autres stations



(Figure 10). De même, les algues vertes dominent dans le biofilm hormis à l'amont (SEL 5) et à l'aval (SEL12). Ces résultats sont à confirmer par des comptages au microscope optique (en cours).



**Figure 10.** Biomasses des 3 groupes spectraux mesurées par le phytoPAM pour le phytoplancton (gauche) et le biofilm (droite) sur les stations d'études.

Pannard A., Gorzerino C., Massé S., Pellan L., Bouger G., Piscart C. (2016) Influence d'un double barrage sur la dynamique saisonnière des communautés de phytoplancton et de microphytobenthos. 4ième Journées Internationales de Limnologie et d'Océanographie (JILO), St Malo (France), 27-29 septembre 2016

### 3- Activité photosynthétique (Alexandrine Pannard, Ecobio ; Caroline Gorzerino, ESE)

Ces travaux ont pour objectif de caractériser l'activité photosynthétique des producteurs primaires, une des sources d'énergie importante des réseaux trophiques. Pour chaque date et station en 2016, l'activité photosynthétique du biofilm et du phytoplancton a été mesurée grâce au PhytoPAM. Cet appareil utilisé pour mesurer la biomasse des 3 groupes taxonomiques sert également à mesurer l'activité photosynthétique par fluorescence. Il mesure le taux de transfert des électrons (ETR - Electron Transport Rate) entre les photosystèmes PSII et le PSI en fonction de la lumière, en émettant une lumière d'intensité croissante et mesurant la fluorescence émise. Il permet ainsi d'obtenir la relation entre intensité de la lumière et activité photosynthétique (flux d'électron entre les 2 photosystèmes).

L'activité photosynthétique du biofilm reste quasiment la même quelles que soient les stations (Figure 11), malgré les variations de biomasse (Figure 8), et reste faible par rapport au phytoplancton. L'activité photosynthétique du phytoplancton est plus forte et plus variable. Elle est minimale dans le barrage de Vezins et maximale à l'aval. Ces données ponctuelles sont à comparer avec les données du suivi mensuel dans le cadre du projet Biomonitoring. Comme en 2015, l'activité photosynthétique mesurée à l'aval des barrages augmente pour le phytoplancton (SEL12 correspondant au pont de Signy), alors que sa biomasse chute.

Pour 4 des 6 stations retenues (Sélune amont, Pont de la République, barrage de Vezins, Pont de Signy, soit SEL5, SEL19, SEL23 et SEL12 respectivement), et également la station affluents CHE4, l'activité photosynthétique du phytoplancton et du biofilm a été mesurée simultanément par mesure au phytoPAM (Figure 11) et par marquage isotopique au <sup>13</sup>C (Figure 12). L'incubation au <sup>13</sup>C s'est faite pendant 4h *in situ* à environ 20 cm sous la surface de l'eau, dans des flacons de cultures étanches de 250 mL pour le phytoplancton et dans des sacs Whirl-Pak de 390 mL pour le biofilm. Les lames avec le biofilm étaient mises à incuber avec de l'eau de la rivière filtrée sur GF/F pour enlever le phytoplancton. L'incorporation de <sup>13</sup>C a été mesurée pour chaque échantillon et les calculs des taux par unité de biomasse sont toujours en cours d'analyse. Les pré-résultats de production primaire (par

unité de volume ou de surface) sont montrés Figure 12. Le marquage est maximal dans le barrage de Vezins, en accord avec la forte biomasse de biofilm et de phytoplancton (la masse sèche est 8 fois plus élevée que celle des autres stations ; Figure 9). Lorsque l'incorporation sera rapportée par unité de biomasse de phytoplancton et de biofilm, ces résultats pourront être comparés à ceux du phytoPAM (productivité primaire).

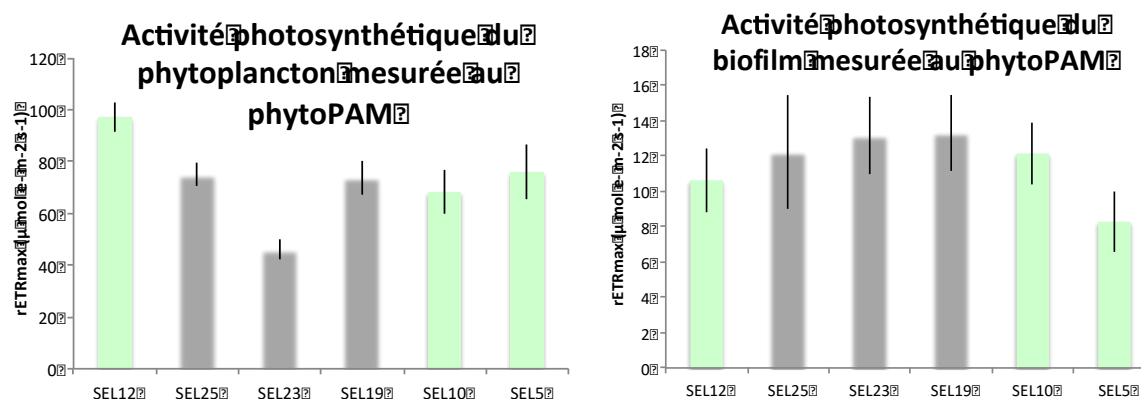


Figure 11. Activité photosynthétique globale mesurée au phytoPAM pour le phytoplancton (gauche) et le biofilm (droite) sur les stations d'études.

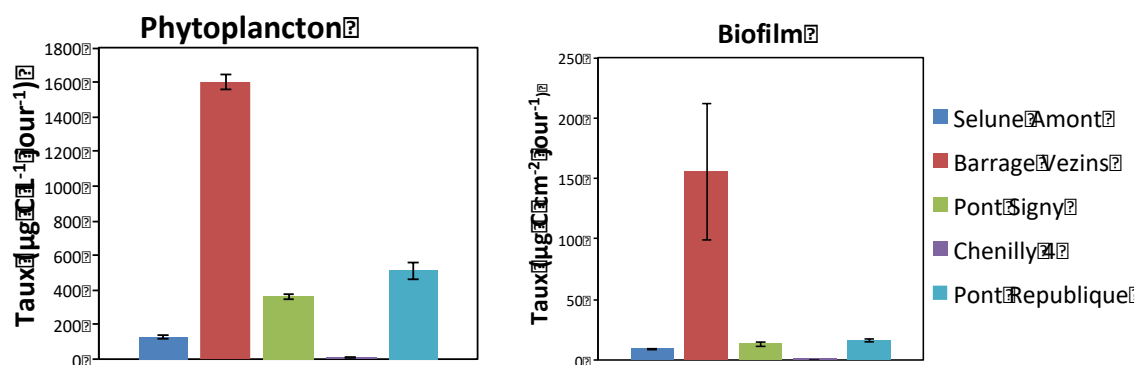


Figure 12. Résultats préliminaires des taux d'incorporation de <sup>13</sup>C par unité de surface ou de volume pour le phytoplancton (gauche) et le biofilm (droite) sur les stations d'études.

Massé S., Pannard A., Piscart C. (2016) Photosynthetic activity of phytoplankton and biofilm in a river fragmented by dams. 4ième Journées Internationales de Limnologie et d'Océanographie (JILO), St Malo (France), 27-29 septembre 2016

#### 4 - Les communautés d'invertébrés aquatiques (Christophe Piscart, Ecobio)

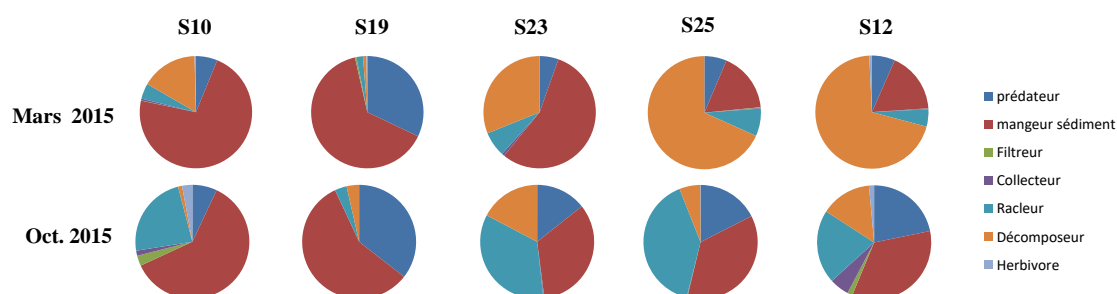
Des prélèvements d'invertébrés ont été réalisés au printemps 2016. Pour chaque site, quatre substrats artificiels constitués par 5L de galets ont été utilisés pour déterminer la structure trophique des communautés d'invertébrés. Les résultats sont encore en cours d'acquisition au laboratoire (tri) mais nous avons déjà fini l'analyse des campagnes du printemps et de l'automne 2015 (Figure 13).

Les résultats de la campagne d'échantillonnage de l'automne 2015 confirment l'effet des retenues sur la structure trophique des communautés d'invertébrés de la Sélune (Figure 13). En amont (Sel10) et au début de la retenue de Vézins (Sel19), les communautés d'invertébrés sont largement dominées par

les mangeurs de dépôts, essentiellement des Oligochètes et des larves de Chironomidés. Ce groupe trophique diminue progressivement de l'amont vers l'aval pour être remplacés par les racleurs et, dans une moindre mesure les décomposeurs dans les retenues (Sel23 et Sel25) et sur la station en aval des retenues (Sel12). La très forte proportion relative des racleurs sur les sites des retenues s'explique essentiellement par la présence, quasi exclusive de substrats minéraux grossiers (galets, pierres, blocs) et l'absence de courant, ce qui est propice à l'installation du biofilm consommé par les racleurs.

Nos résultats indiquent également une forte variabilité saisonnière dans la structure trophique des stations des retenues (S23 et S25) et aval (S12) puisque les communautés sont dominées par les décomposeurs au printemps et par les racleurs en automne (Figure 13). Cette variation saisonnière s'explique facilement par le fait que les racleurs, qui utilisent le biofilm, se développent surtout en fin de printemps et l'été lorsque la production de biofilm est maximale. Au mois de mars, durant lequel l'échantillonnage a été réalisé, les racleurs sont encore peu présents au stade larvaire alors que les décomposeurs qui se nourrissent de débris organiques arrivant dans les cours d'eau à la fin de l'automne et l'hiver y sont présents tout au long de l'année.

Le traitement des échantillons collectés en 2016 devront permettre d'affiner les changements de structure trophique des communautés et de vérifier si ces changements dépendent de la saison dépendant. En effet, les conditions environnementales et particulièrement l'hydrologie et la température de l'eau sont très impactées par les barrages, cela pourrait donc avoir des conséquences non seulement sur la structure des réseaux trophiques mais également sur les productions des écosystèmes en raison d'accélération de cycles de développement pouvant conduire à des émergences précoces. Ces modifications des émergences pourraient impactées la structure des communautés automnales qui dépendent en grande partie de l'émergence et de la reproduction des communautés du printemps. Ces liens pourront être confirmés par le suivi saisonniers sur plusieurs années (2014, 2015, 2016) afin d'étudier la succession des communautés.



**Figure 13.** Proportions relatives des principales guildes trophiques des communautés d'invertébrés sur les cinq stations de la Sélune en Mars et Octobre 2015.

Pellan L., Pannard A., Bouger G., Gorzerino C., Massé S., Poupelin M., Petton C., Piscart C. (2016) Effets des barrages sur les communautés d'invertébrés de la Sélune. 4<sup>ème</sup> Journées Internationales de Limnologie et d'Océanographie (JILO), St Malo (France), 27-29 septembre 2016.

Piscart C., Santonja S., Rivière S., Puijalon S. (2016) Rôle de la diversité fonctionnelle de la ripisylve dans la structure des réseaux trophiques des cours d'eau. 4<sup>ème</sup> Journées Internationales de Limnologie et d'Océanographie (JILO), St Malo (France), 27-29 septembre 2016.

Reslou F. (2015). Mis en évidence de l'effet des barrages de la Sélune (Normandie) sur les communautés d'invertébrés aquatiques et sur le fonctionnement de l'écosystème associé. Rapport de stage Master 1 EFCE, université de Rennes 1, 20p

Rivière S. (2015). Rôle de la diversité fonctionnelle de la ripisylve dans la structure des réseaux trophiques des cours d'eau. Rapport de stage Master 2 EFCE, université de Rennes 1, 25p.

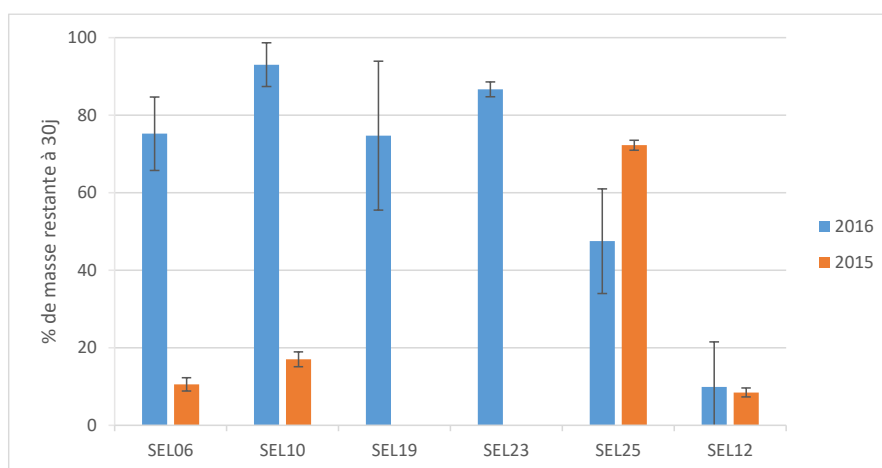
## 5- Activité de dégradation de la matière organique (Christophe Piscart, Ecobio)

Des mesures de vitesse de décomposition de litière d'aulne ont été mises en place en mars 2016. Les sacs de litière ont été placés pendant 1 mois à l'intérieur des substrats artificiels afin de prendre en compte les très fortes variations de niveau d'eau possible sur certaines stations et pour permettre une meilleure interprétation des résultats de décomposition avec la faune présente dans les sacs en 2016. En effet, les sites de la retenue de Vezins n'ont pas pu être étudiés en 2015 à cause des fortes variations hydrologiques des retenues qui n'ont pas permis la mesure du taux de décomposition des litières.

Nos résultats montrent une très forte variabilité dans les vitesses de décomposition entre 2015 et 2016 sur les sites amont (SEL05 et SEL10) qui varient d'un facteur 8 à 9 entre mars 2015 et mars 2016 et une vitesse de décomposition beaucoup plus faible en 2016 (Figure 14). En revanche, la décomposition au site de la Roche qui Boit (SEL25) est légèrement supérieure en 2016 et la vitesse de décomposition dans le site aval (SEL12) est resté stable.

La diminution de la vitesse de décomposition en 2016 sur les sites amont peut s'expliquer par des crues importantes, à cette période sur le secteur amont, qui ont probablement perturbées les communautés de macroinvertébrés sur ces sites. Toutefois, seul le traitement des échantillons d'invertébrés qui est toujours en cours pour cette date apportera les preuves de cet impact. Cela serait aussi cohérent avec les plus faibles écarts observés sur le site de la Roche qui Boit et le site aval, pour lesquels le contrôle du régime hydrologique par les barrages a sans doute permis de tamponner l'effet des crues dans et à l'aval des retenues.

L'absence de données de décomposition dans les retenues en 2015 ne permet pas de mesurer l'effet des retenues en 2015. Les données de 2016, certainement perturbées par les crues à l'amont, ne permettent pas non plus de conclure définitivement sur l'effet des barrages. Toutefois la forte accélération de la décomposition sur le site aval en 2015 et 2016 par rapport au site de la Roche qui Boit suggère que la décomposition des litières pourrait être fortement réduite par les barrages.



**Figure 14.** Pourcentage de masse restante de litière d'Aulne (moyennes  $\pm$  Erreur standard) dans les sacs après 30j d'immersion dans les 6 stations de la Sélune en 2015 et 2016.

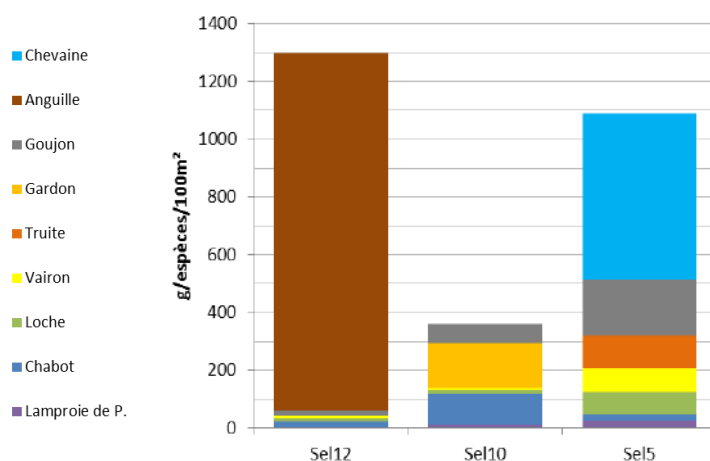
Santonja S., Lanuzel R., Pellan L., Piscart C. (2016) Effets de la qualité de la litière et de son conditionnement sur les traits d'alimentation de 11 macroinvertébrés aquatiques. 4ième Journées Internationales de Limnologie et d'Océanographie (JILO), St Malo (France), 27-29 septembre 2016.

## 6 - Les écrevisses (Jean-Marc Paillisson, Ecobio)

Aucune action réalisée en 2016, l'ensemble des inventaires ayant été achevé en 2015.

## 7 - Les communautés de poissons (Jean-Marc Roussel, ESE ; Maxime Poupelin, ESE)

Les inventaires piscicoles ont été réalisés en 2015, grâce à une méthode de pêche électrique par points ponctuels d'abondance (au total, 15 points par station). Une nouvelle présentation des données a été faite pour exposer les résultats en biomasse, à partir des poids des individus capturés et en considérant que chaque point de pêche électrique couvre une surface de 6.5m<sup>2</sup>.



**Figure 15.** Variations de la biomasse totale des espèces de poissons capturées par pêche électrique (méthode des points d'abondance) sur les 3 stations lotiques de référence.

Les résultats (Figure 15) confirment que la station aval des barrages (Sel12) est largement dominée par l'anguille en biomasse comme en abondance, à raison de 1,25 Kg de poids frais pour 100m<sup>2</sup>. Même si la biomasse des autres espèces est faible, cette station est la plus productive en poisson de l'ensemble des stations inventoriées (y compris les stations en affluents), avec 1,3 Kg/100m<sup>2</sup>. La biomasse de poisson est beaucoup plus faible (0,35 Kg/100m<sup>2</sup>) sur la station amont à Saint-Hilaire (SEL10), où une espèce plutôt limnophile (le gardon) domine. La biomasse augmente de manière nette sur la station la plus amont (SEL5), ce qui est conforme à la tendance observée pour les abondances. Toutefois, on note la présence de gros spécimens de chevaïne dans les captures (plus de 400g), ce qui a pour effet d'amplifier l'écart de biomasse par rapport à la station médiane (SEL10). A noter enfin une biomasse plus importante de chabot (SEL10) et l'apparition de la truite à sur la station amont uniquement (SEL5).

## 8 - Analyse des réseaux trophiques (Jean-Marc Roussel, ESE ; Maxime Poupelin ESE ; Jean-Marc Paillisson, Ecobio)

Sur chaque station du cours principal de la Sélune, les prélèvements suivants ont été réalisés : poissons (pêche électrique), écrevisses (nasses), invertébrés aquatiques (filet Surber), plantes aquatiques et rivulaires (ramassage à vue), matière organique sédimentée (pompage à la seringue), litière de feuilles d'arbre tombées dans d'eau (ramassage à vue) et biofilm (poussé sur lames de verre). Pour les poissons et écrevisses, toutes les espèces présentes ont été considérées, à hauteur de 5 à 10 spécimens par espèces. Pour les invertébrés, des taxons ont été sélectionnés de sorte à représenter au mieux les principaux groupes trophiques, sur la base des connaissances sur leur écologie, à raison de 3 échantillons par espèce.

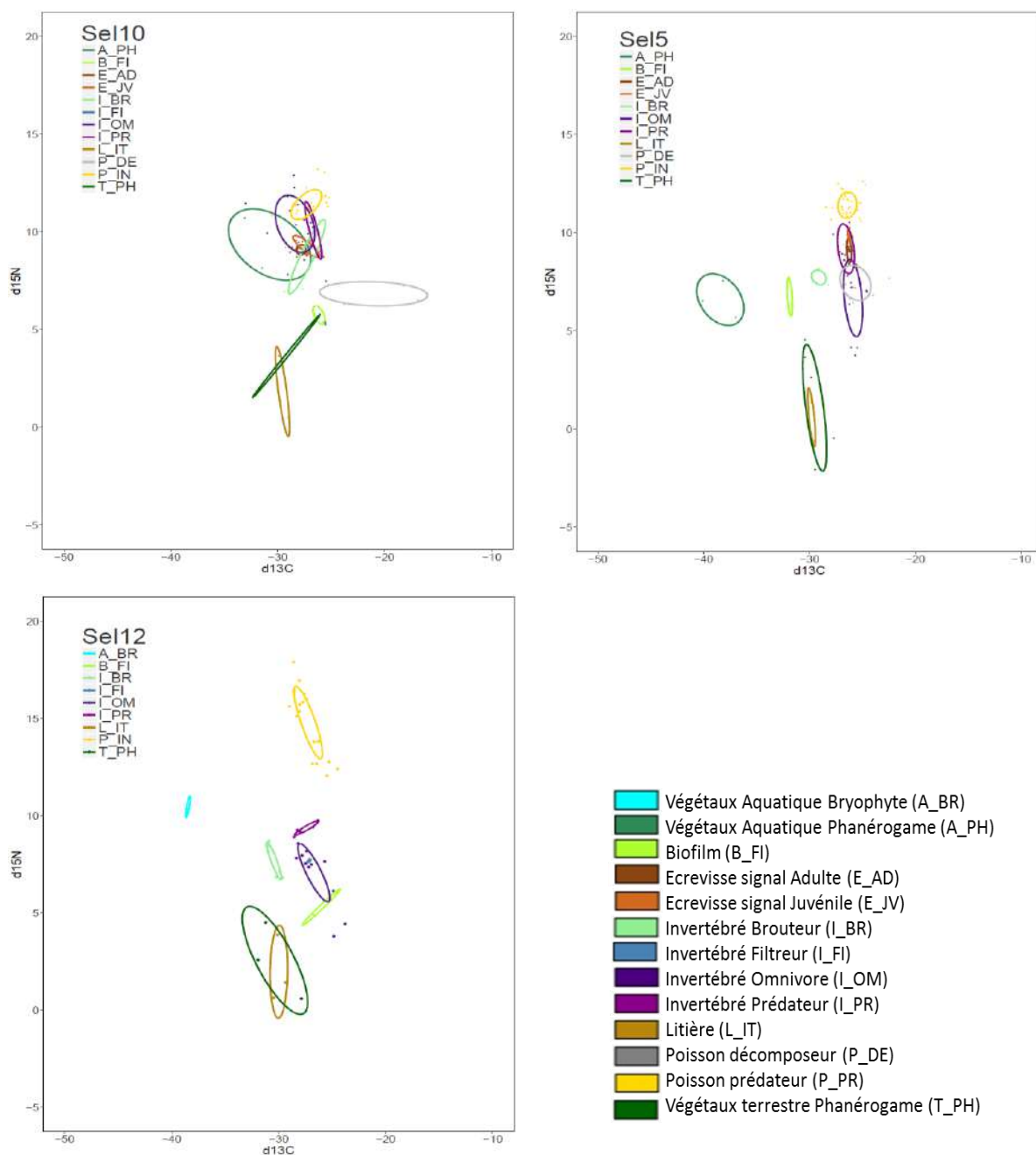
Les échantillons ont ensuite été préparés au laboratoire : nettoyage, lyophilisation, broyage en poudre fine, pesée (0,4 ou 1 mg selon les tissus animal ou végétale, respectivement) et encapsulation dans des petites feuilles d'étain. A noter que seul le muscle (tissu recommandé pour ce genre d'analyse des réseaux trophiques par les isotopes stables) a été considéré pour les poissons et les écrevisses. A noter encore que pour les invertébrés aquatiques de petites tailles, il a fallu cumuler plusieurs

spécimens pour obtenir un échantillon de masse suffisante. Une fois préparé, ces échantillons ont été envoyés pour analyse des isotopes stables de l'azote et du carbone, dans un laboratoire spécialisé de l'Université du Nouveau Brunswick (Canada).

Les données obtenues expriment les proportions d'isotopes lourds dans les échantillons, exprimées en ‰ selon la notation conventionnelle  $\delta$  ( $\delta^{13}\text{C}$  pour le carbone,  $\delta^{15}\text{N}$  pour l'azote). Avant analyse de données, les valeurs ont été corrigées pour prendre en compte un biais potentiel lié à la présence de lipides (tissus animaux), en utilisant le rapport C/N comme approximation de la teneur en lipide (méthode proposée par Post et al. (2007, *Oecologia*, 152: 179-189). Les analyses de visualisation des réseaux trophiques ont ensuite été réalisées à partir de la méthode des ellipses (Jackson et al. 2011, *Journal of Animal Ecology*, 80: 595–602) à l'aide du package SIAR sous R.

Bien que les résultats des analyses laissent apparaître des différences entre les 3 sites d'étude sur le cours principal (Figure 16), il se dégage de l'ensemble une architecture de réseau trophique assez clair et conforme aux attentes eu égard des prélèvements réalisés (Figure 16bis). Notamment, les poissons invertivores (essentiellement chabots, loches, vairons, goujons et gardons, qui mangent des invertébrés) sont enrichis en  $^{15}\text{N}$  par rapport aux invertébrés, et également par rapport aux larves de lamproies qui se nourrissent dans les sédiments fins. La niche isotopique (alimentaire) des lamproies chevauche celles des invertébrés omnivores (et dans une moindre mesure celle des invertébrés filtreurs, mais l'échantillon est très faible pour ces derniers), mais se dissocie assez nettement de celle des invertébrés brouteurs qui sont plus appauvris en  $^{13}\text{C}$ . La niche isotopique de l'écrevisse signal s'avère très similaire entre juvéniles et adultes, et se placent de manière intermédiaire entre les celle des poissons invertivores et celles des détritivores. De plus, la niche isotopique de l'écrevisse est très semblable à celle des invertébrés prédateurs (*Perlidae*, et Odonate *Calopterygidae* et *Gomphidae*). Cela tend à indiquer que l'écrevisse signal se place à un niveau trophique sensiblement plus haut que celui auquel on pouvait s'attendre eu égard le mode d'alimentation qu'on lui prête généralement (broyeur-déchetteur de matière organique, macro-décomposeur).

On note enfin que les principales sources alimentaires non-animales qui ont été analysées montrent une assez grande variabilité isotopique. Une analyse de données plus poussée devra permettre de confirmer que la litière d'origine terrestre, les biofilms produits dans la rivière, et la matière organique qui en découle représente les sources principales de carbone qui soutiennent la production de biomasse des consommateurs primaires et secondaires. A l'inverse, ils confirment aussi le rôle trophique mineur des macrophytes et bryophytes comme sources alimentaires dans le réseau trophique du cours principal, situation assez commune dans ce type de rivière.



**Figure 16.** Résultats des analyses isotopiques (C et N) sur les organismes aquatiques regroupés par types trophiques, pour chaque station du cours principal. L'aire de chaque ellipse représente le cœur de la distribution de chaque groupe (40% de la variance sur le plan bivarié), cette mesure étant robuste malgré des différences de tailles d'échantillons entre les groupes. Les ellipses sont calculées par simulation en utilisant le package Stable Isotope Bayesian Ellipses in R (SIBER) sous R.

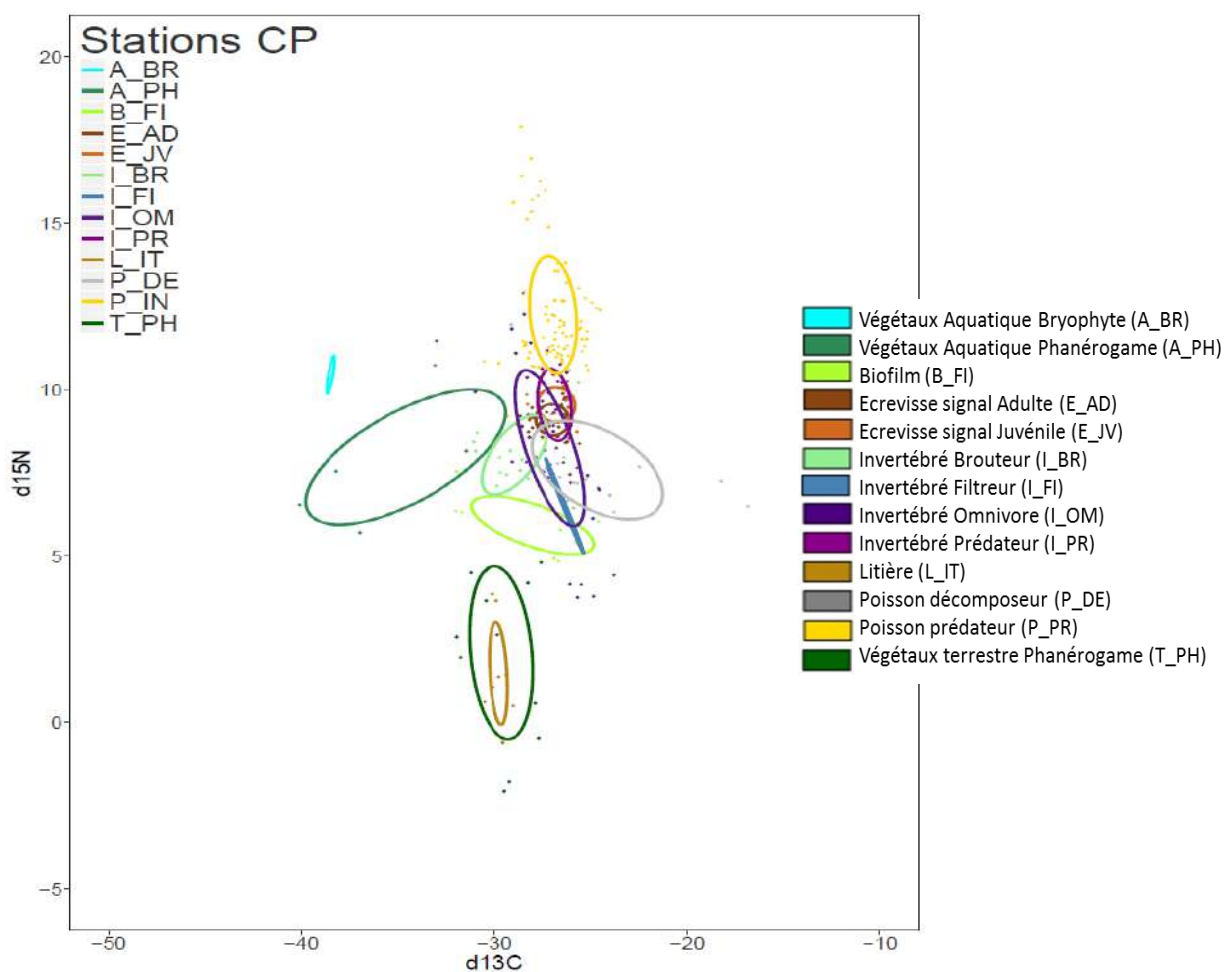


Figure 16bis. Regroupement des 3 stations du cours principal sur le même graphique (cf Figure 16 pour explications).

Fraisse S., Roussel J.M. & Baglinière J.L. Les réseaux trophiques et le fonctionnement des cours d'eau, impact des principales perturbations. 16ème journée d'information du Syndicat Mixte du Bassin de la Sélune, Saint James, 7 juillet 2016. Présentation orale et document (19p).

Roussel J.M., Launey S., Paillisson J.M., Huteau D., Quéméré E., Besnard A.L., Tréguier A. Combining molecular and isotopic tools to study the trophic ecology of exotic species and their biological control by native predators. 10th International Conference on Applications of Stable Isotope Techniques to Ecological Studies, Tokyo (Japan) 3-8 April 2016. Communication orale.

## 9 - Mise au point du Barcoding (Dominique Barloy, Jean-Marc Roussel, ESE)

Suite aux difficultés techniques rencontrées en 2015, l'approche moléculaire des relations trophiques (barcoding alimentaire) est abandonnée. Les conséquences sur l'avancement du projet sont minimales, puisque le barcoding alimentaire était surtout envisagé comme un complément à l'approche classique par analyses de isotopes stables (paragraphe ci-dessus).



### **Partie III. Sur les 8 stations pilote en affluents**

	2014		2015		2016	
	S1	S2	S1	S2	S1	S2
<b>8 stations pilote sur 5 affluents de la Sélune</b>						
1- Etude des communautés végétales et animales			X		X	
2- Activité photosynthétique	<i>Initialement pas prévu</i>		X		X	
3- Dégradation de la matière organique				X	X	
4- Analyse des réseaux trophiques (isotopes stables et barcoding alimentaire), prélèvements			X		X	
<b>Travaux en laboratoire</b>						
Tri et détermination taxonomique			X	X	X report	
Préparation des échantillons pour l'ergostérol	X report	X report	X report	X report	X	
Préparation des échantillons pour les isotopes	X report	X		X		
Dosage C, N et P dans les végétaux	X report			X	X	
Préparation et analyse de barcoding alimentaire			X report	X report	X	X
Analyse de l'ergostérol (prestation externe)				X report		
Analyse des isotopes stables (prestations externes)				X	X	X
<b>Interprétation des résultats</b>						
<b>Valorisation</b>						
			X	X	X	X

Le travail a pour objectif de décrire les biocénoses aquatiques, végétales et animales, en place sur les 6 stations de référence choisies. Il s'appuie sur des inventaires réalisés à partir des méthodes spécifiques aux différents groupes taxonomiques et conventionnellement utilisées dans ce type d'étude. Il doit permettre la caractérisation des communautés, d'un point de vue structurel (détermination taxonomique, abondance, biomasse), mais également fonctionnel. Dans ce dernier cas, des méthodologies spécifiques ont été mises en place pour évaluer l'activité photosynthétique par les producteurs primaires, la dégradation de la matière organique par les consommateurs primaires, et les principales interactions trophiques au sein des communautés aquatiques. Les éléments de méthodes communs à l'étude des stations du cours principal sont disponibles dans la partie précédente (Partie II) et ne sont pas réécrits ici.

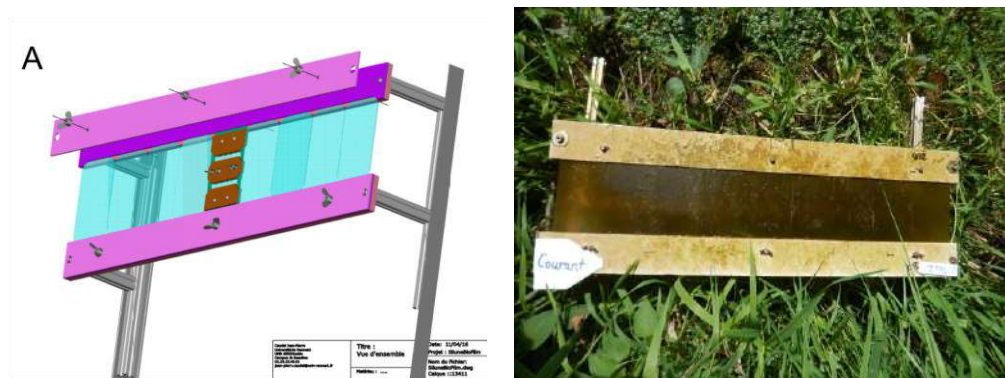
#### 1- **Les communautés végétales aquatiques** (Julie Coudreuse, ESE)

Les inventaires de macrophytes et bryophytes réalisées en 2015 étant suffisant, aucune nouvelle activité a été réalisée sur ce thème en 2016.

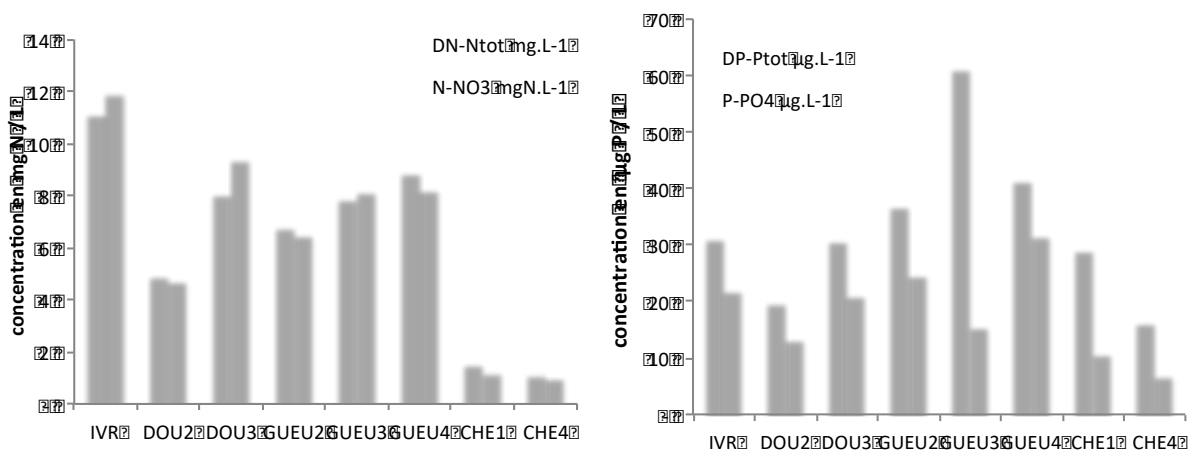
#### 2- **Les communautés planctoniques et biofilms** (Alexandrine Pannard, Ecobio ; Caroline Gorzerino, ESE)

Pour l'étude du biofilm dans les affluents, nous avons mis en place le même type de supports que pour les stations du cours principal (voir II.2). Les supports de lames étaient placés cette fois directement sur des piquets en métal enfoncés dans le sédiment (Figure 17). La hauteur des piquets était adaptée en fonction de la hauteur d'eau au moment de la pose du système. Pour chaque station, deux systèmes ont été installés en mai 2016 et retirés en juin 2016, après 1 mois de colonisation.

Contrairement à 2015, les lames ont ainsi été placées verticalement dans le cours d'eau afin d'éviter leur recouvrement par divers éléments (sable, feuilles ...), comme observé en 2015 ; elles ont de plus été placées parallèlement au courant.



**Figure 17.** Système de fixation des lames pour les stations lotiques (à gauche) et lames dans leurs supports après colonisation (à droite).



**Figure 18.** Concentration en nutriments aux différentes stations : (a) concentration en nitrates et azote total dissous et (b) concentrations en orthophosphates et phosphore total dissous.

Les concentrations en nutriments sont très variables d'une station à l'autre, mais on observe des valeurs plus faibles sur l'affluent Chenilly, que ce soit pour les concentrations d'azote ou en phosphore (Figure 18). Un abattement des concentrations entre l'amont et l'aval des affluents a également été observé lors de l'échantillonnage (Figure 18).

A noter tout d'abord que les 2 systèmes installés au niveau de la station GUE2 ont été arrachés pendant le mois de colonisation des lames ; aucun échantillon de biofilm n'a alors pu être récupéré.

Selon les stations, un biofilm plus ou moins important a pu se développer (Figure 19). De même, les concentrations de phytoplancton sont variables selon les stations (Figure 19). Pour chaque affluent, la concentration amont pour le phytoplancton est supérieure à la concentration aval (Figure 19), comme pour les nutriments (Figure 18). Ces valeurs seront à valider par les dosages de chlorophylle a (en cours). Si ces valeurs se confirment, la présence d'étangs connectés aux affluents pourrait augmenter les concentrations de phytoplancton. La biomasse de biofilm est également variable selon les affluents.

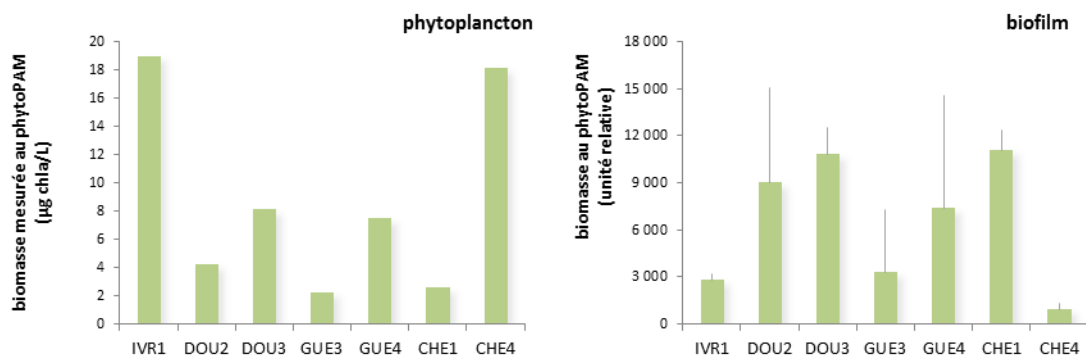


Figure 19. Biomasses mesurées par le phytoPAM pour le phytoplancton (gauche) et le biofilm (droite) sur les affluents. Les traits verticaux représentent les écarts types autour de chaque moyenne.

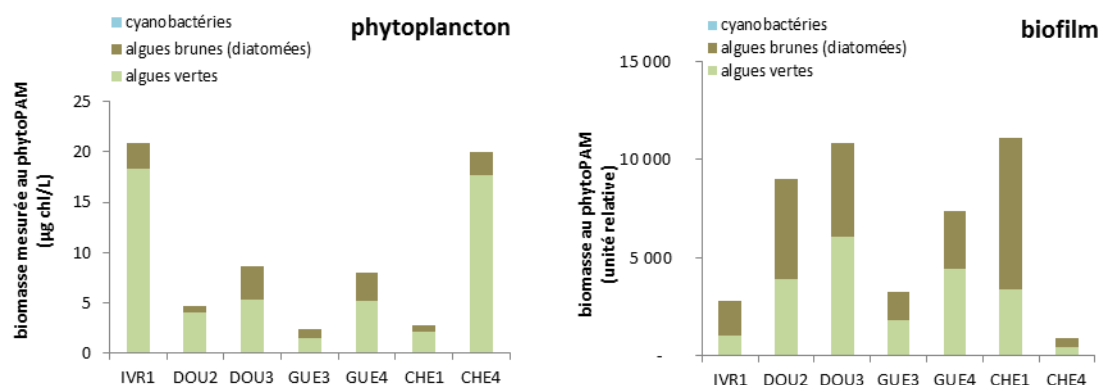


Figure 20. Biomasses des 3 groupes spectraux mesurées par le phytoPAM pour le phytoplancton (gauche) et le biofilm (droite) sur les affluents.

Que ce soit pour le phytoplancton ou pour le biofilm, les résultats montrent une co-dominance des algues vertes et des diatomées (Figure 20), comme pour le cours principal (Figure 10). Les premiers résultats au microscope montrent plutôt une dominance des diatomées, même si des algues vertes comme *Stigeoclonium* sont présentes dans le biofilm (Figure 21.a). Une plus grande hétérogénéité est également observée sur les lames par rapport à 2015 (Figures 21 et 22).



Figure 21. Vue au microscope d'une des lames incubée sur GUE 4, en 2016 (à gauche) et en 2015 (à droite).

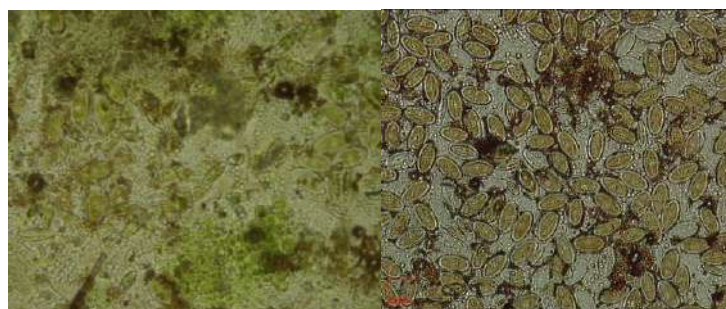


Figure 22. Vue au microscope d'une des lames incubée sur DOU3, en 2016 (à gauche) et en 2015 (à droite).

### 3- Activité photosynthétique (Alexandrine Pannard, Ecobio ; Caroline Gorzerino, ESE)

L'activité photosynthétique du phytoplancton et celle du biofilm ont été mesurées comme pour le cours principal et montre des variations en fonction des affluents (Figure 23). Pour le biofilm, les stations sur Chenilly présentent une activité photosynthétique plus faible que les autres affluents (Figure 23). A l'inverse, la station DOU3 (amont) présente une activité photosynthétique du biofilm maximale (Figure 23), comme en 2015.

Comme pour le cours principal, des incubations de 4h au  $^{13}\text{C}$  ont été réalisées pour le phytoplancton et le biofilm à la station CHE4. Le taux d'incorporation est le plus faible des 5 stations échantillonnées (Figure 13).

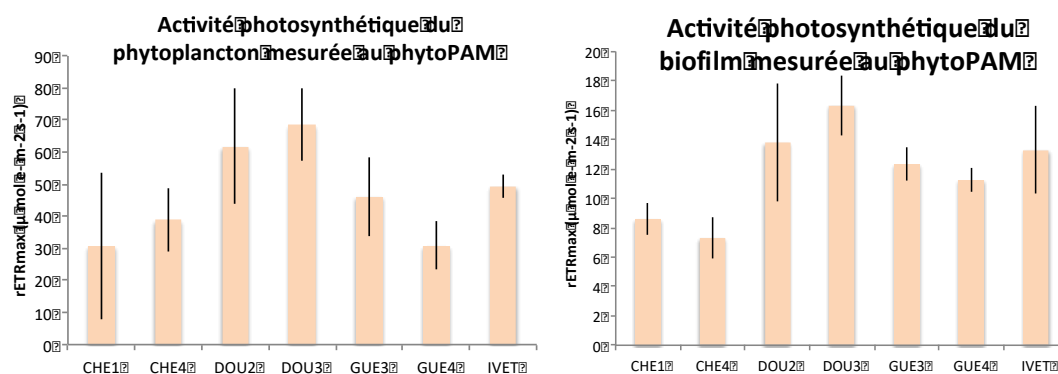


Figure 23. Activité photosynthétique globale mesurée au phytoPAM pour le phytoplancton (gauche) et le biofilm (droite) sur les stations d'études.

### 4- Les communautés d'invertébrés aquatiques (Christophe Piscart, Ecobio)

Les échantillonnages des communautés de macroinvertébrés ont été réalisés en Mars 2016 mais sont encore en cours d'analyse.

## 5- Activité de dégradation de la matière organique (Christophe Piscart, Ecobio)

Nous avons complété les données concernant la composition chimique des litières testées en 2015 grâce à un nouvel analyseur élémentaire acquis en 2016. Pour mémoire, nos résultats (stage M2 de Sylvestre Rivière, 2015) avaient montré que la cinétique de décomposition des litières d'Aulnes, de Chêne et de Châtaignier était expliquée en grande partie par les structures biomécaniques des feuilles. Toutefois, les analyses de leur composition chimique en 2016 (Tableau 1) semblent indiquer que leur dégradation est également bien corrélée à la teneur en Azote (Figure 24a) et négativement corrélée à la teneur en phénols (Figure 24b).

Tableau 1. Composition élémentaire (C, N et P) et teneurs en phénols des litières testées en 2015.

	<i>Alnus glutinosa</i>	<i>Castanea sativa</i>	<i>Quercus robur</i>
Carbone (%)	47,55 ± 0,41	46,45 ± 0,16	48,31 ± 0,06
Azote (%)	2,43 ± 0,05	1,35 ± 0,03	1,03 ± 0,00
Phosphore (%)	0,07 ± 0,00	0,06 ± 0,00	0,03 ± 0,00
Phénols (%)	3,48 ± 0,08	6,35 ± 0,17	8,66 ± 0,25
C:N ratio	19,58 ± 0,22	34,39 ± 0,68	47,14 ± 0,12
C:P ratio	662,28 ± 38,14	794,23 ± 18,48	1422,71 ± 24,80
N:P ratio	33,87 ± 2,19	23,15 ± 0,98	30,18 ± 0,45

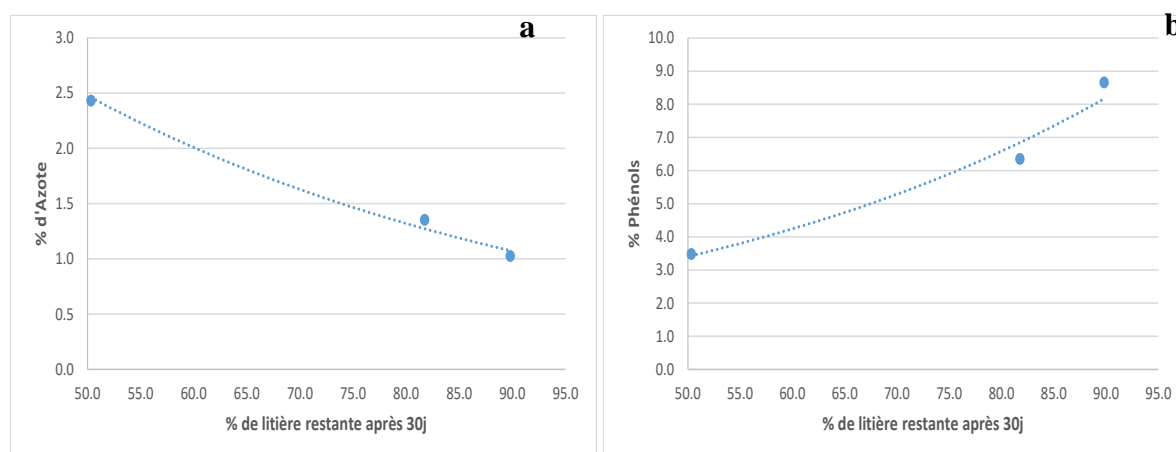


Figure 24. Relation entre la teneur en azote (a) et phénols (b) des litières et la quantité de litières restantes après 30j d'immersion en rivière.

Afin de confirmer le rôle de la composition chimique des feuilles, il a fallu réaliser une expérimentation avec un plus grand nombre de type de litière afin d'augmenter la puissance statistique de nos corrélations. En 2016, nous avons donc suivi la décomposition de 18 types de litières couramment rencontrées (Tableau 2). L'ensemble de ces espèces permet d'avoir une grande variété de compositions physiques et chimiques représentatives de différents types d'environnement avec des espèces de zones humides et d'autres de milieux plus secs. La vitesse de décomposition des litières a pu être mise en relation avec les communautés d'invertébrés de ruisseaux et dans les sacs contenant la litière. La quantité de micro-organismes associés a été estimée par des mesures des respirations basales (BR) et induites (SIR) à l'aide d'un micro-chromatographe en phase gazeuse ( $\mu$ GC SRA A 3000). Cette technique, que nous avons pu développer dans notre laboratoire, semble plus performante que les mesures de l'ergostérol puisqu'elle a l'avantage de mesurer l'état écophysiological de l'ensemble des communautés microbiennes (champignons et bactéries) qui ont colonisées les feuilles, contrairement à l'ergostérol qui ne prend en compte que les champignons et même lorsque ceux-ci ne sont pas actifs.

Tableau 2. Liste des litières étudiées

<i>Famille</i>	<i>Nom scientifique</i>	<i>Nom vernaculaire</i>	<b>CODE</b>
<i>Betulaceae</i>	<i>Alnus glutinosa</i>	<i>Aulne glutineux</i>	ALGL
<i>Betulaceae</i>	<i>Betula pendula</i>	<i>Bouleau verruqueux</i>	BEPE
<i>Betulaceae</i>	<i>Carpinus betulus</i>	<i>Charme commun</i>	CABE
<i>Corylaceae</i>	<i>Corylus avelana</i>	<i>Noisetier commun</i>	COAV
<i>Dennstaedtiaceae</i>	<i>Pteridium aquilinum</i>	<i>Fougère-aigle</i>	PTAQ
<i>Fagaceae</i>	<i>Castanea sativa</i>	<i>Chataignier</i>	CASA
<i>Fagaceae</i>	<i>Fagus sylvatica</i>	<i>Hêtre commun</i>	FASY
<i>Fagaceae</i>	<i>Quercus robur</i>	<i>Chêne pédonculé</i>	QURO
<i>Fagaceae</i>	<i>Quercus rubra</i>	<i>Chêne rouge</i>	QURU
<i>Hamamelidaceae</i>	<i>Liquidambar sp.</i>	<i>Liquidambar</i>	LISP
<i>Rosaceae</i>	<i>Malus domestica</i>	<i>Pommier</i>	MADO
<i>Rosaceae</i>	<i>Prunus avium</i>	<i>Merisier</i>	PRAV
<i>Salicaceae</i>	<i>Salix atrocinerea</i>	<i>Saule roux</i>	SAAT
<i>Salicaceae</i>	<i>Salix babylonica</i>	<i>Saule pleureur</i>	SABA
<i>Sapindaceae</i>	<i>Acer platanoides</i>	<i>Erable plane</i>	ACPL
<i>Tiliaceae</i>	<i>Tilia cordata</i>	<i>Tilleul à petites feuilles</i>	TICO
<i>Tiliaceae</i>	<i>Tilia platyphyllos</i>	<i>Tilleul à grandes feuilles</i>	TIPL
<i>Ulmaceae</i>	<i>Ulmus minor</i>	<i>Orme champêtre</i>	ULMI

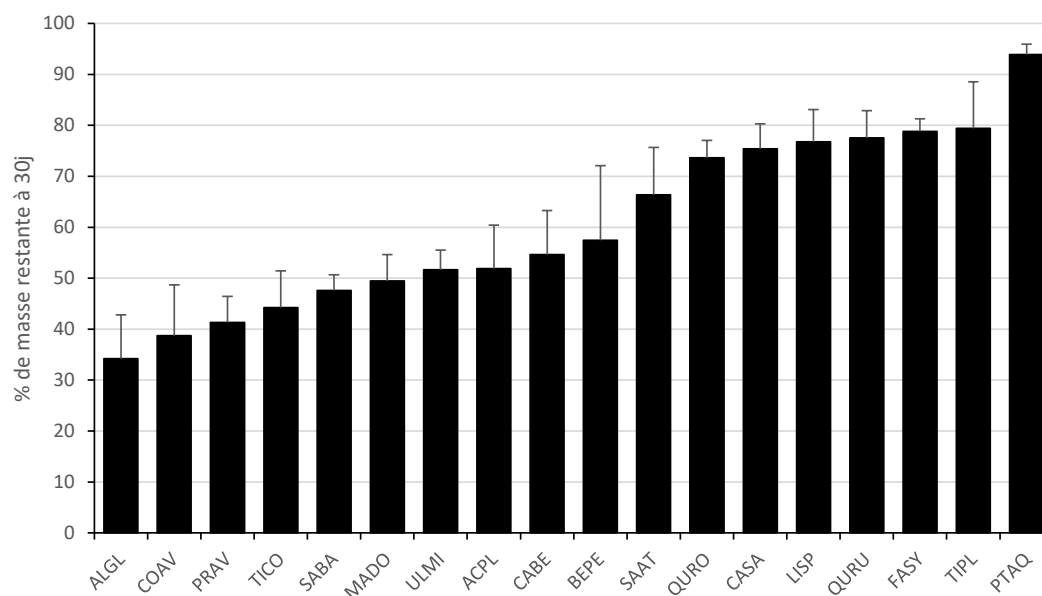
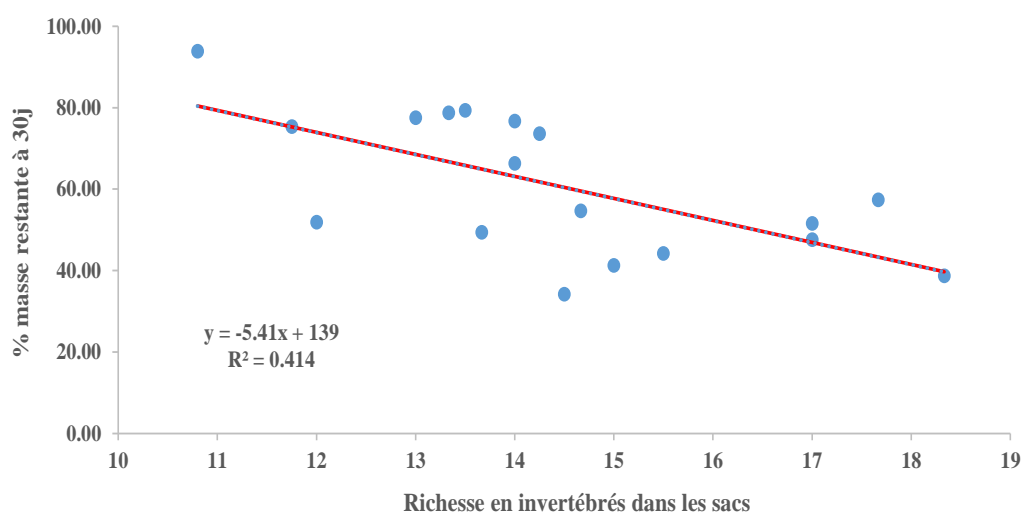


Figure 25. Pourcentage de masse restante (moyennes  $\pm$  Ecart-type) dans les sacs après 30j d'immersion dans le ruisseau.

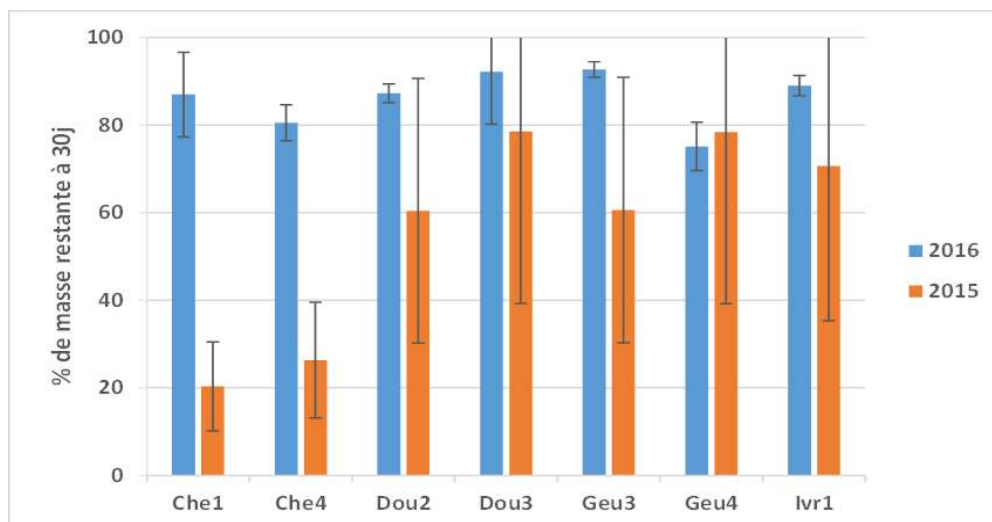
Comme attendu, les résultats mettent en évidence des différences significatives de vitesse de décomposition en fonction des espèces avec des pertes de masses variant de 6,1 à 65,8% après 30j d'immersion (Figure 25). L'espèce la plus décomposée est l'Aulne glutineux (ALGL) et la moins décomposée est la fougère (PTAQ) avec une forte variabilité entre les espèces. Le graphique met également en évidence des variations de décomposition de feuilles au sein d'un même genre par exemple entre les Saules (SABA et SAAT) ou entre les Tilleuls (TICO et TIPL). Nos résultats ont également montré, contrairement à l'étude de 2015 avec seulement 3 types de feuilles, que les caractéristiques physiques des feuilles (épaisseur, dureté) ne sont pas bien corrélées à leur vitesse de décomposition. La palatabilité des litières semble donc fortement liée à la composition chimique de celles-ci. Ainsi, la composition élémentaire des feuilles semble être importante dans le processus de décomposition et en particulier la quantité d'Azote et de Souffre qui sont significativement corrélés à la décomposition.

Du point de vue des organismes aquatiques, nous n'avons pas pu mettre en évidence de relation entre la biomasse microbienne active et la vitesse de décomposition, certainement parce que la décomposition microbienne est largement minoritaire dans les sacs à litière où les invertébrés peuvent pénétrer. En revanche le type de litière a un très fort effet sur la composition des communautés d'invertébrés qui colonisent les sacs de litière. La richesse taxonomique varie ainsi de  $10,8 \pm 5,6$  taxons dans la Fougère (PTAQ) à  $18,3 \pm 2,1$  taxons dans le noisetier (COAV). Il ne semble toutefois pas y avoir de sélection de taxon spécifique aux différents types de litière mais uniquement une diversité plus ou moins importante. Les résultats montrent également une très forte corrélation négative entre la quantité de litière restante à 30jours et la diversité des macroinvertébrés qui explique à elle seule 41% de la variation de la vitesse de décomposition (Figure 26). La diversité taxonomique est donc de loin le facteur qui explique le plus la décomposition de la litière. Il est toutefois difficile à ce stade de savoir quel(s) facteur(s) (forme des feuilles, dureté, composition chimique) explique(nt) les variations de richesse taxonomique observées.



**Figure 26** : Relation entre le pourcentage de masse restante dans les sacs après 30j d'immersion dans le ruisseau et la richesse en invertébrés dans les sacs de litière.

Finalement, des mesures de vitesse de décomposition de litière d'Aulne ont été mises en place sur les 8 stations pilotes des affluents en mars 2015 et mars 2016 avec le même lot de feuilles afin d'estimer la variabilité annuelle de la vitesse de décomposition des litières (Figure 27). Nos résultats montrent une très forte variabilité dans les vitesses de décomposition malgré le fait que ces expériences aient été réalisées à la même période. D'un point de vue général, la vitesse de décomposition des litières a été beaucoup plus faible en 2016 qu'en 2015. Comme sur le cours principal de la Sélune, les fortes crues en 2016 sur la partie amont du bassin versant de la Sélune pourraient expliquer cette diminution. Les données sur les communautés d'invertébrés associées à ces litières, en cours de traitement, devraient apporter les résultats importants pour expliquer ces différences.



**Figure 27 :** Pourcentage de masse restante de litière d'Aulne (moyennes  $\pm$  Erreur standard) dans les sacs après 30j d'immersion dans les 8 stations des affluents de la Sélune en 2015 et 2016.

Fillet C. (2015). Effet de la dureté des litières de feuille sur leur décomposition par les invertébrés aquatiques et les flux de matières organiques associées. Rapport de stage Master 1 EFCE, université de Rennes 1, 21p

Lannuzel R. (2016). Effet du conditionnement des litières de feuilles sur leur palatabilité et leur décomposition par les invertébrés aquatiques. Rapport de stage Master 1 EFCE, université de Rennes 1, 20p

Somda M-L. (2016). Rôle des caractères physiques et chimiques des litières dans leur décomposition par les communautés d'invertébrés dulçaquicoles. Rapport de stage Master 1 READ, université de Rennes 1, 20p.

#### 6- **Les écrevisses** (Jean-Marc Paillisson, Ecobio ; Maxime Poupelin, ESE)

Aucune action réalisée en 2016, l'ensemble des inventaires ayant été achevé en 2015.

#### 7- **Les communautés de poissons** (Jean-Marc Roussel, ESE ; Maxime Poupelin, ESE)

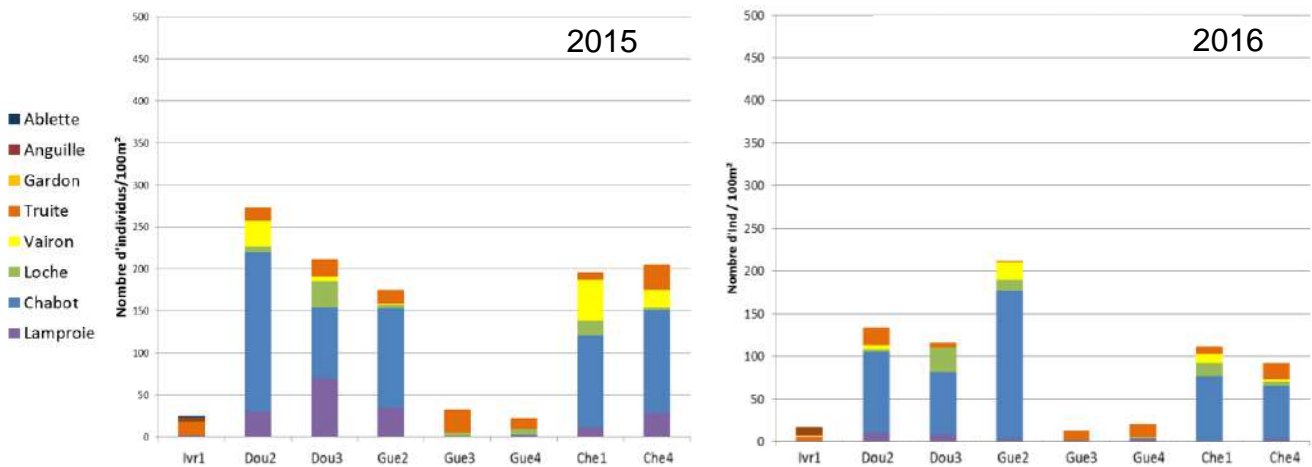
En 2015, les communautés poissons des 8 stations affluents ont été inventoriées par pêche électrique, selon la méthode des enlèvements successifs (un même secteur est pêché plusieurs fois de suite sans remise des poissons entre chaque enlèvement). Cette méthode nécessite l'utilisation de filets pour clore hermétiquement chaque secteur à l'amont et à l'aval et prévenir le mouvement des poissons entre chaque passage. L'utilisation des filets n'est pas envisageable dans le cours principal de la Sélune, pour des raisons pratiques. Aussi en 2015 sur le cours principal, une méthode de pêche électrique différente, dite par points d'abondance, avait été appliquée sur les stations SEL5, SEL10 et SEL12.

Un nouvel échantillonnage des poissons en affluents a été mené en 2016, toujours par pêche électrique, mais en utilisant la méthode des point d'abondance (15 points par station), comme sur le cours principal en 2015, pour pouvoir comparer les résultats. Les fluctuations d'abondance les plus importantes entre 2015 (pêche par enlèvements) et 2016 (pêche par points d'abondance) sur les affluents sont liées à deux espèces, le chabot et la lamproie (Figure 28). D'une manière générale, la lamproie est une espèce dont l'abondance des larves, enfouies dans le sédiment fin, est très difficile à estimer en pêche électrique (Lasne et al. 2010, Fisheries Research 106 : 22–26), et particulièrement lors de pêche par points. A l'inverse pour le chabot, les variations enregistrées entre 2015 et 2016 ne

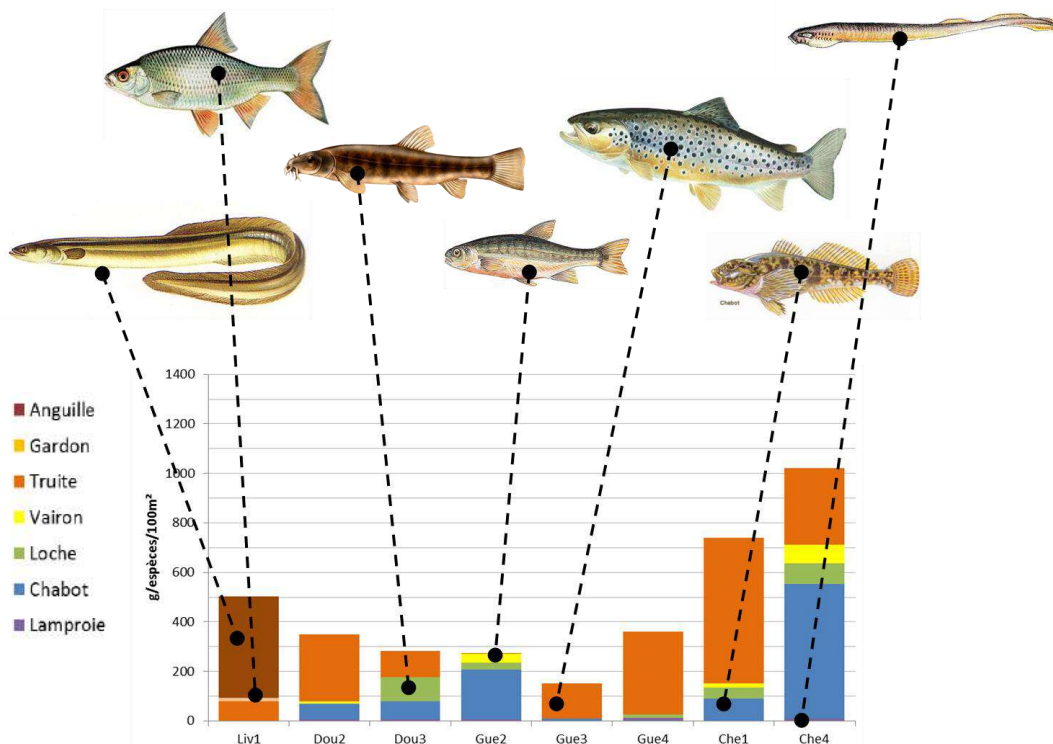


sont pas clairement liées à la méthode de pêche, mais semble plutôt traduire une variabilité entre stations selon les années, tout comme pour les autres espèces (hormis la lamproie).

La présence de gros spécimens de truite (DOU2, GUE4, CHE1, CHE4) et d'anguille (LIV1) influence les biomasses dans les affluents (Figure 29). On remarque aussi la très forte biomasse de chabot sur CHE4, station la plus productive en poissons sur les affluents avec plus d'1 Kg/100m<sup>2</sup>. D'une manière générale, il faut noter qu'une partie des stations en affluents (LIV1, CHE1, CHE4, et dans une moindre mesure GUE4 et DOU2) présentent des biomasses en poisson comparables à celle trouvées dans les stations larges du cours principal (SEL10 et SEL12). Cela souligne la bonne productivité des affluents, et contraste avec un schéma simple de gradient amont-aval de production dans les réseaux trophiques selon l'ordre de drainage.



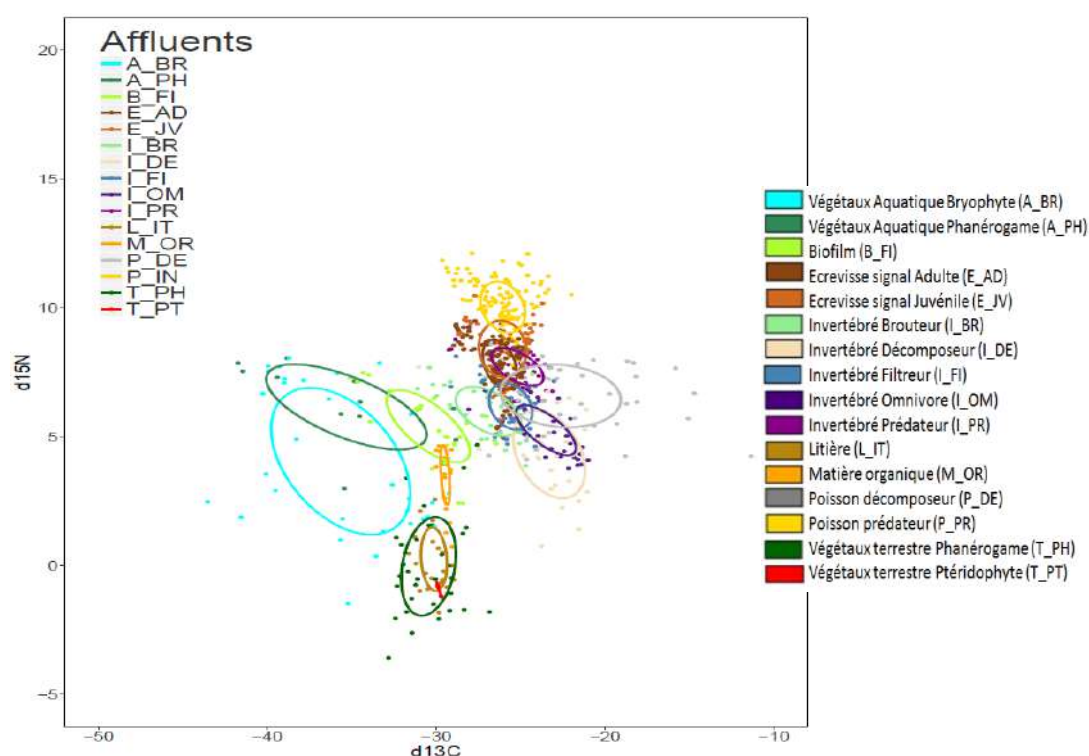
**Figure 28.** Densités estimées en 2015 par pêche électrique – méthode des enlèvements successives (graphique de gauche), et abondances pêchées en 2016 par pêche électrique - méthode des points d'abondance (graphique de droite), pour la faune piscicole sur les stations des affluents retenues pour le projet « réseaux trophiques »



**Figure 29.** Variation des biomasses de la faune piscicole sur les 8 stations de référence pour caractériser les réseaux trophiques du cours principal de la Sélune

## 8- Analyse des réseaux trophiques (Jean-Marc Roussel, ESE ; Jean-Marc Paillisson, Ecobio ; Maxime Poupelin, ESE)

La même procédure d'échantillonnage et de traitement des échantillons que pour les stations du cours principal de la Sélune a été suivie sur les huit stations affluents. De même, une démarche identique pour l'analyse des données conduit à une architecture de réseaux trophiques très proche entre affluents et cours principal, telle que représentée par la méthode des ellipses sur la Figure 30.



**Figure 30.** Résultats des analyses isotopiques (C et N) sur les organismes aquatiques regroupés par types trophiques, pour les 7 stations affluents où l'écrevisse Signal est présente (DOU2, DOU3, GUE2, GUE3 ? GUE4, CHE1, CHE4). L'aire de chaque ellipse représente le cœur de la distribution de chaque groupe (40% de la variance sur le plan bivarié), cette mesure étant robuste malgré des différences de tailles d'échantillons entre les groupes. Les ellipses sont calculées par simulation en utilisant le package Stable Isotope Bayesian Ellipses in R (SIBER) sous R.

On remarque notamment que les écrevisses Signal ont une position élevée dans le réseau trophique, leur niche isotopique se superposant avec celles des invertébrés prédateurs et se démarquant très nettement de celles des invertébrés brouteurs-racleurs de biofilm, des invertébrés décomposeurs de litière, ou encore des poissons suspensivores-décomposeurs (lamproie). De plus, comme pour le cours principal, que la contribution des bryophytes et les macrophytes aquatiques au réseau trophique est probablement marginale, ce qui devra être confirmé par une analyse de données plus précises.

Enfin, la seule station sans écrevisse, LIV1, présente une architecture de réseau trophique semblable, néanmoins toute conclusion sur ce point serait trop fragile à ce stade eu égard la faiblesse de l'échantillonnage.

Roussel J.M., Launey S., Paillisson J.M., Huteau D., Quéméré E., Besnard A.L., Tréguier A. Combining molecular and isotopic tools to study the trophic ecology of exotic species and their biological control by native predators. 10th International Conference on Applications of Stable Isotope Techniques to Ecological Studies, Tokyo (Japan) 3-8 April 2016. Communication orale.

## Rapport d'avancement 2017

## **Effets de l'arasement des barrages sur le fonctionnement des réseaux trophiques**

### **Avancement des travaux 2017**

#### ***UMR ESE Ecologie et Santé des Ecosystèmes (INRA / Agrocampus-Ouest à Rennes)***

Julie Coudreuse, Caroline Gorzerino, Dominique Huteau, Eric Petit, Maxime Poupelin,  
Jean-Marc Roussel

#### ***UMR ECOBIO Ecosystèmes, Biodiversité, Evolution (CNRS/Université Rennes 1)***

Guillaume Bouger, Jean-Marc Paillisson, Alexandrine Pannard, Christophe Piscart

#### **Rappel du contexte du projet**

Le projet « Réseaux Trophiques » (« projet RT » par abréviation dans la suite du document) a l'ambition de considérer, dans un ensemble large, les différentes composantes des biocénoses aquatiques et rivulaires de la Sélune, des sources à l'estuaire. Sans focaliser sur un groupe taxonomique ou une communauté d'espèces en particulier, la démarche vise à étudier les interactions entre ces composantes, des microorganismes aux poissons, avec pour objectif principal de comprendre les relations trophiques (« qui mange quoi »). Les interactions trophiques sous-tendent en grande partie les équilibres (et les déséquilibres) que l'on peut observer au sein des écosystèmes. Décrivant le fonctionnement des écosystèmes, ce type d'approche sur les réseaux trophiques est souvent qualifiée de fonctionnel. Dans le cas présent, le projet RT doit permettre de comprendre les équilibres trophiques actuels dans les écosystèmes aquatiques, des têtes de bassin versant à l'estuaire, puis de suivre les modifications engendrées par la restauration des continuités écologiques, et notamment les nouveaux équilibres qui s'installeront au sein des biocénoses aquatiques.

Les recherches menées dans le projet RT apporteront des réponses aux questions génériques suivantes : quelles conséquences ont les opérations de démantèlement de barrages sur les biocénoses aquatiques en place, leurs interactions et le fonctionnement des écosystèmes aquatiques, des têtes de bassin versant à l'estuaire ? Comment l'écosystème rivière se restaure-t-il à l'emplacement précis d'un ancien lac de barrage ? Quels sont les rôles de certaines espèces clés (notamment les poissons amphihalins et les espèces invasives) dans les nouveaux équilibres de l'écosystème cours d'eau reconnecté à l'océan ?

#### **Rappel des objectifs généraux**

Durant la période 2014-2019, avant l'ouverture de l'hydrosystème aux migrateurs amphihalins, deux objectifs sont particulièrement visés par le projet RT dans sa configuration initiale. Il s'agit :

- 1- d'établir, avant les opérations de vidange, un état de lieux des réseaux trophiques et du fonctionnement des écosystèmes aquatiques sur le fleuve (hors estuaire) et les affluents,
- 2- d'étudier, à partir des opérations de vidange, la mise en place des nouveaux équilibres trophiques dans les néo-habitats d'eau courante.

#### **Partenaires scientifiques impliqués et évolution**

Le projet RT regroupe 9 personnes de deux Unités Mixtes de Recherche : Ecologie et Santé des Ecosystèmes (INRA-Agrocampus Ouest à Rennes) et Ecobio (CNRS-Université de Rennes). Il a débuté de manière effective au troisième trimestre 2014 avec le recrutement d'un assistant ingénieur pour 3 ans (2014-2017), Maxime Poupelin, dont le rôle est de mener les campagnes d'échantillonnage sur le terrain, de contribuer à la préparation des échantillons et au rendu des résultats.

A noter enfin que l'extension de l'aire d'étude vers l'estuaire fait l'objet d'un travail en cours. Deux nouveaux partenaires, Ifremer Dinard et Agrocampus-Ouest travaillent sur les communautés benthiques et les réseaux trophiques de l'estuaire et de la Petite Baie. Ludovic Goyot a été embauché sur CDD pour 1 an (2017-2018) grâce au financement AESN (convention AESN-INRA n°1066356). Bien que sur 2 conventions différentes, les travaux des projets en rivière et en estuaire sont coordonnés et les informations complémentaires qu'ils apporteront pourront faire l'objet de comparaisons. De plus, les analyses isotopiques d'échantillons de la Petite Baie (prestations externes) ont été financées sur le budget du projet « Réseaux Trophiques » (AESN-INRA n° 1 050 492) en 2017. Les résultats de la convention n°1066356 feront l'objet d'un rapport final spécifique en 2018.

### **Organisation du rapport 2017**

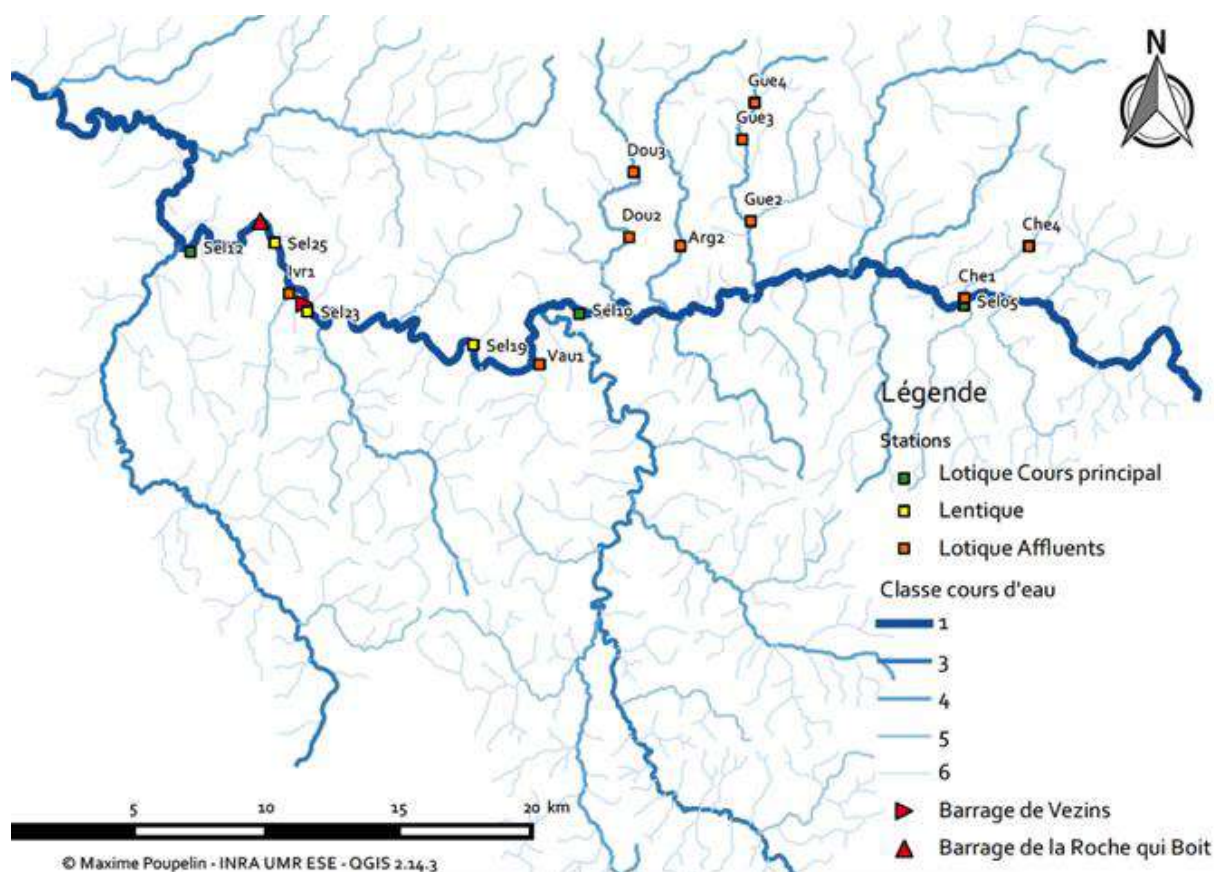
Ce rapport d'avancement du projet RT ne reprend que les résultats et faits marquants de l'année 2017. Il s'agit du dernier rapport d'avancement de l'étude, un rapport final faisant la synthèse des résultats acquis et donnant les conclusions opérationnelles sera produit au premier semestre 2019. Le rapport 2017 s'organise de la même manière que les rapports 2015 et 2016, en 3 parties successives qui correspondent aux travaux menés :

**Partie I.** A l'échelle de l'hydrosystème entier

**Partie II.** Sur 6 stations pilotes du cours principal

**Partie III.** Sur 8 stations pilotes en affluents, augmenté de 2 stations supplémentaires en 2017

La carte présentée ci-dessous (**Figure 1**) reprend l'ensemble des stations échantillonnées dans les 3 parties du projet RT (profil en long, réseaux du cours principal, réseaux des affluents).



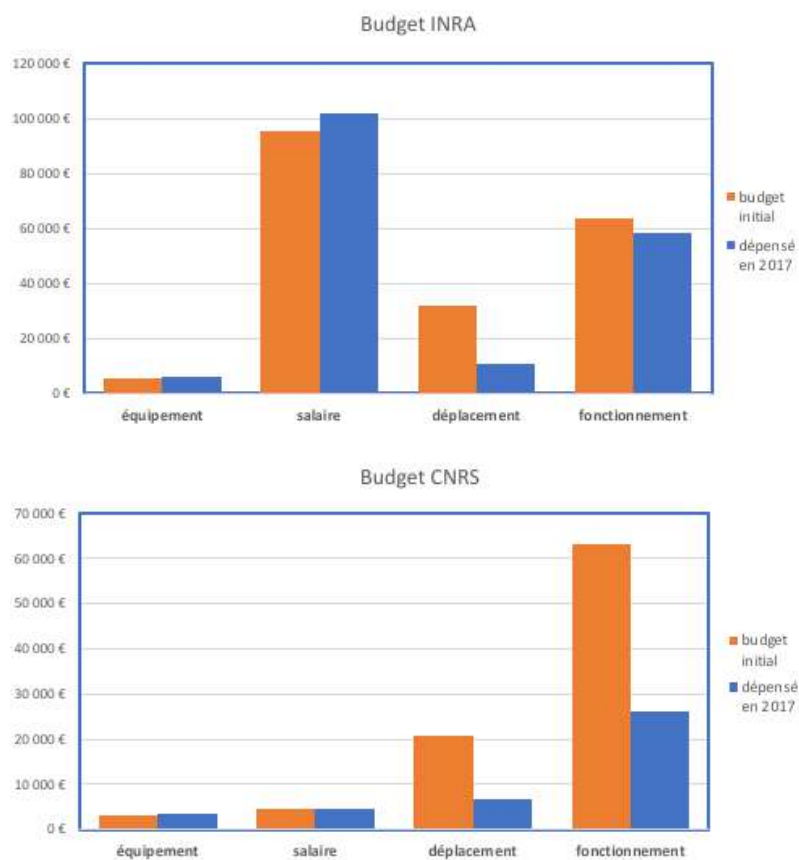
**Figure 1.** Les principales stations d'études retenues depuis 2014 pour le projet « réseaux trophiques ».

Pour suivre l'avancement des travaux, chaque partie débute par un tableau qui rappelle les livrables annuels attendus. Dans ces tableaux, une croix verte signifie que le livrable est accompli, une croix orange qu'il est en cours (léger retard par rapport aux prévisions), une croix rouge qu'il n'a pas été

réalisé (décalage de programmation ou abandon). Ensuite pour chaque partie, les résultats obtenus en 2017 sont présentés sous une forme synthétique et illustrative, mettant en avant les principales avancées et conclusions du projet RT pour l'année 2017.

### **Point budget fin 2017**

La convention AESN-INRA n° 1 050 492 couvre la période de juillet 2014 à juillet 2019. Un budget total de 295 427 € est réparti sur deux laboratoires, INRA (UMR ESE, Rennes) d'une part et CNRS (UMR Ecobio, Rennes) d'autre part. Les dépenses cumulées par poste jusqu'en 2017 inclus sont présentées sur la **Figure 2**.



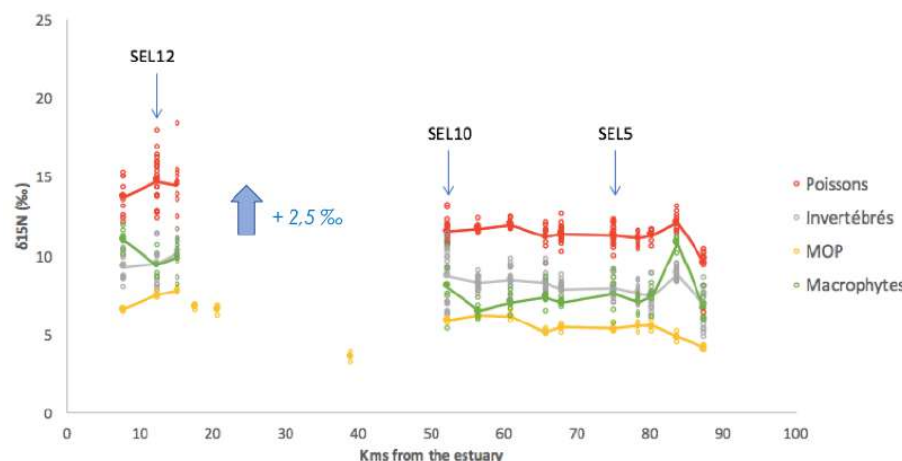
**Figure 2.** État des dépenses sur le projet, selon les 2 sous budgets (INRA, UMR ESE et CNRS, UMR ECOBIO).

## Partie I. A l'échelle de l'hydrosystème Sélune

	2014		2015		2016		2017	
	S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2
<b>Echelle hydrosystème Sélune</b>								
1- Profil isotopique de référence	X		X					
2- Essai déteçtabilité par ADNe	X	X	X	X	X	X		
3- Distribution spatiale écrevisse signal			X	X	X	X	X	
<b>Travaux en laboratoire</b>								
Préparation des échantillons isotopes		X	X	X	X	X	X	X
Préparation et analyse de barcoding alimentaire			X	X	annulé			
Analyse des isotopes stables (prestations externes)				X	X	X	X	X
<b>Interprétation des résultats ; valorisation</b>								
			X	X	X	X	X	X

### 1- Profil isotopique de référence (Jean-Marc Roussel, ESE ; Maxime Poupelin, ESE).

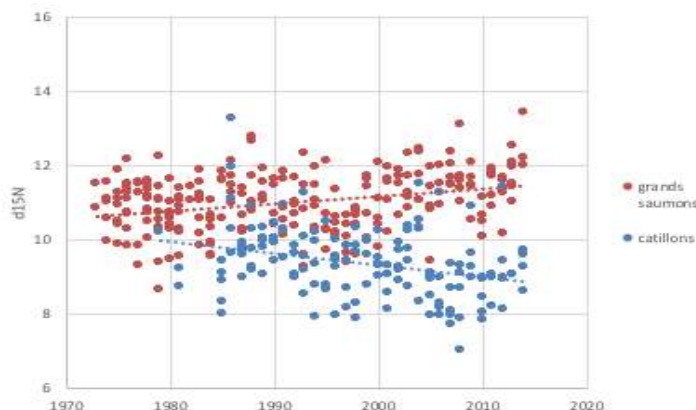
Les prélèvements étant terminés, les travaux en 2017 ont porté sur l'analyse des isotopes de l'azote, qui semblent le mieux marquer la rupture de continuum à l'aval des barrages (**Figure 3**). Dans l'hypothèse maintenant proposée, les barrages présentent un obstacle au flux vers l'amont de nutriments marins (enrichis en  $^{15}\text{N}$ ), dont les principaux vecteurs sont les poissons diadromes (notamment le saumon Atlantique *Salmo salar*, l'anguille européenne *Anguilla anguilla* et la lamproie marine *Petromyzon marinus*) actuellement bloqués à l'aval.



**Figure 3.** Profils isotopiques aval-amont pour les isotopes de l'azote ( $\delta^{15}\text{N}$ , en ‰) dans différents tissus / compartiments du réseau trophique de la Sélune. MOP = matière organique particulaire, échantillon issu de filtration d'eau.

Nous avons donc voulu vérifier que les signaux marins véhiculés par les poissons diadromes étaient bien enrichis en  $^{15}\text{N}$ . Pour cela, nous avons analysé les isotopes C et N présents dans le collagène des écailles de saumon capturés à la ligne par les pêcheurs dans la Sélune au cours des dernières décennies. Les résultats confirment que par rapport aux valeurs isotopiques dans les biocénoses aquatiques présentes à l'amont des barrages (cf Figure 3), le contraste isotopique est fort (2-3 ‰ sur le  $\delta^{15}\text{N}$ ) et tend à augmenter pour les grands saumons revenant dans la Sélune après un séjour marin d'au moins 2 hivers de mer (**Figure 4**). Par contre, le contraste avec les castillons (séjour en mer court) tend à diminuer. Malgré tout, nous devrions être en mesure de suivre, dans les années à venir, la

progression des nutriments marins vers l'amont après arasement des barrages, en utilisant les isotopes stables de l'azote comme traceur. Il faudra cependant continuer à suivre en parallèle l'évolution des signaux isotopiques marins, pour prévenir toute conclusion erronée.



**Figure 4.** Évolution des ratios isotopiques de l'azote ( $\delta^{15}\text{N}$ , en ‰) dans les écailles des adultes de saumon Atlantique revenant se reproduire dans la Sélune lors des 4 dernières décennies.

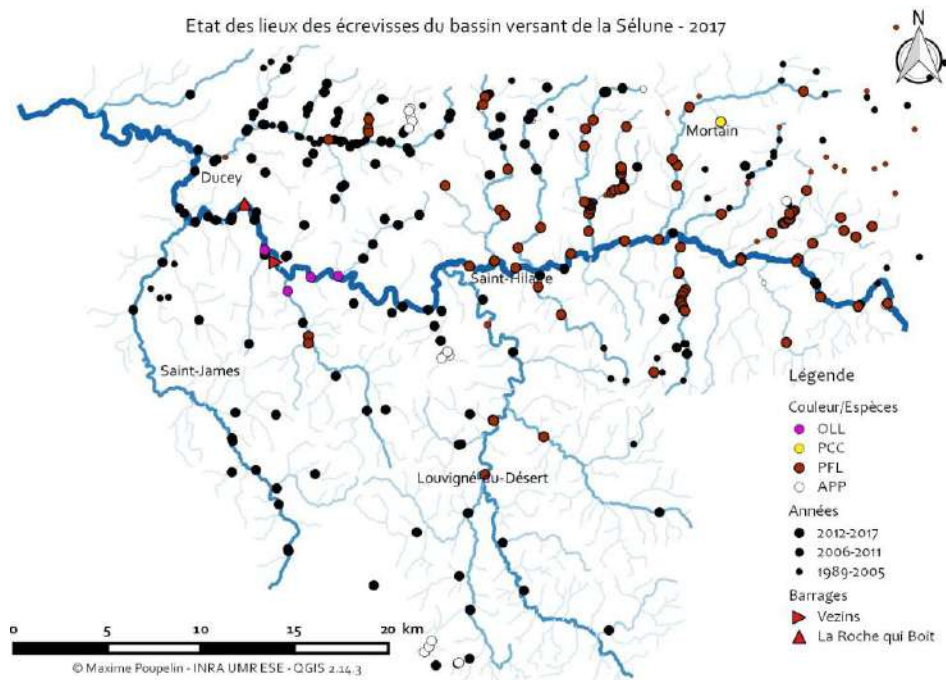
2- **Essais de détectabilité par ADN environnemental** : mise au point d'un protocole pour l'écrevisse signal (Eric Petit, ESE ; Maxime Poupelin)

Les travaux de 2017 concernent l'amélioration des modèles de détection de l'écrevisse et de la peste de l'écrevisse (ou aphanomycose), à partir des prélèvements réalisés les années précédentes. Toujours en cours, ils seront valorisés en 2018 et présentés dans le rapport final. Par ailleurs, une étude complémentaire a été réalisée en 2017 pour élucider la présence d'ADN d'écrevisse sur les stations où le piégeage d'écrevisse est négatif (notamment, à l'aval des barrages sur le Sélune). L'étude repose sur le prélèvement de fèces de deux prédateurs potentiels de l'écrevisse – la loutre d'Europe *Lutra lutra* et l'anguille européen *Anguilla anguilla*, présents à l'aval des barrages, fèces dans lesquels la recherche d'ADN d'écrevisse a été entreprise. L'hypothèse testée est que l'écrevisse serait présente en trop faible quantité pour être piégée, mais pourrait être consommée par les prédateurs avérés de l'espèce. Les analyses sont en cours, les résultats seront également présentés dans le rapport final. Ils permettront de mieux comprendre les modalités de dispersion de l'ADN d'écrevisse en milieu lotique, qui est l'un des points critiques de l'utilisation de la méthode d'ADNe en rivière.

3- **Distribution spatiale des espèces d'écrevisse** (Jean-Marc Paillisson, Ecobio ; Maxime Poupelin, ESE)

La fin des investigations portant sur l'étude de la distribution spatiale des écrevisses avait été actée suite aux travaux réalisés en 2016 ; néanmoins, nous avons souhaité compléter les inventaires sur des secteurs très ciblés. Plus précisément, sur la base des premiers travaux ayant trait à la détection moléculaire (ADNe) de l'écrevisse Signal, quelques divergences de résultats avaient été relevées localement, mais en des localités cruciales. En effet, de l'ADN d'écrevisse Signal avait été décelé, initialement, sur différentes stations du Vaux Roux, petit affluent directement connecté à la retenue du barrage de Vezins, et également en aval des deux barrages, alors que le piégeage n'avait pas permis de capturer d'individus (données de 2014 à 2016). Par conséquent, un complément d'échantillonnage par piégeage a été réalisé en aval des barrages (4 stations), et sur le Vaux Roux (4 stations), consistant à déployer 20 pièges par station sur une durée de 24 h. Dans tous les cas, aucune écrevisse signal n'a été capturée, confirmant l'absence de l'espèce en ces localités (**Figure 5**). Par ailleurs, une actualisation des données d'ADNe sur ces secteurs a également été réalisée. Les résultats obtenus vont permettre de mieux définir des hypothèses biologiques quant à la dispersion de l'ADN de l'écrevisse.





**Figure 5.** Carte actualisée de la distribution des écrevisses sur le bassin de la Sélune. Espèces non natives : OLL, *Orconectes limosus* (écrevisse américaine), PCC, *Procambarus clarkii* (écrevisse de Louisiane), et, PFL, *Pacifastacus leniusculus* (écrevisse Signal). Ecrevisse native : APP, *Austropotamobius pallipes* (écrevisse à pattes blanches).

## **Partie II. Sur les 6 stations pilote du cours principal**

	2014		2015		2016		2017	
	S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2
<b>6 stations pilote sur la Sélune</b>								
1- Etude des communautés végétales et animales	X		X	X	X		X	X
2- Activité photosynthétique	X		X		X		X	X
3- Dégradation de la matière organique	X	X	X	X	X		X	X
4- Analyse des réseaux trophiques (isotopes stables et barcoding alimentaire), prélèvements	X		X		X		X	X
5- Mise au point du barcoding alimentaire		X	X	annulé				
<b>Travaux en laboratoire</b>								
Tri et détermination taxonomique			X	X	X		X	X
Préparation des échantillons pour l'ergostérol		X	X	X	X			
Préparation des échantillons pour les isotopes		X	X	X	X	X	X	X
Dosage C, N et P dans les végétaux		X	X		X		X	X
Préparation et analyse de barcoding alimentaire			X	X	annulé			
Analyse de l'ergostérol (prestation externe)				X	X			
Analyse des isotopes stables (prestations externes)				X	X	X	X	X
<b>Interprétation des résultats ; valorisation</b>			X	X	X	X	X	X

### 1- **Etude des communautés végétales et animales en place** (collectif ESE et Ecobio).

Le travail a pour objectif de décrire les biocénoses aquatiques, végétales et animales, en place sur les 6 stations de référence choisies. Il s'appuie sur des inventaires réalisés à partir des méthodes spécifiques aux différents groupes taxonomiques et conventionnellement utilisées dans ce type d'étude. Il doit permettre la caractérisation des communautés, d'un point de vue structurel (détermination taxonomique, abondance, biomasse) et fonctionnel (production primaire, dégradation de la matière, production secondaire, organisation des réseaux trophiques).

#### i) **Les communautés végétales aquatiques** (Julie Coudreuse, ESE)

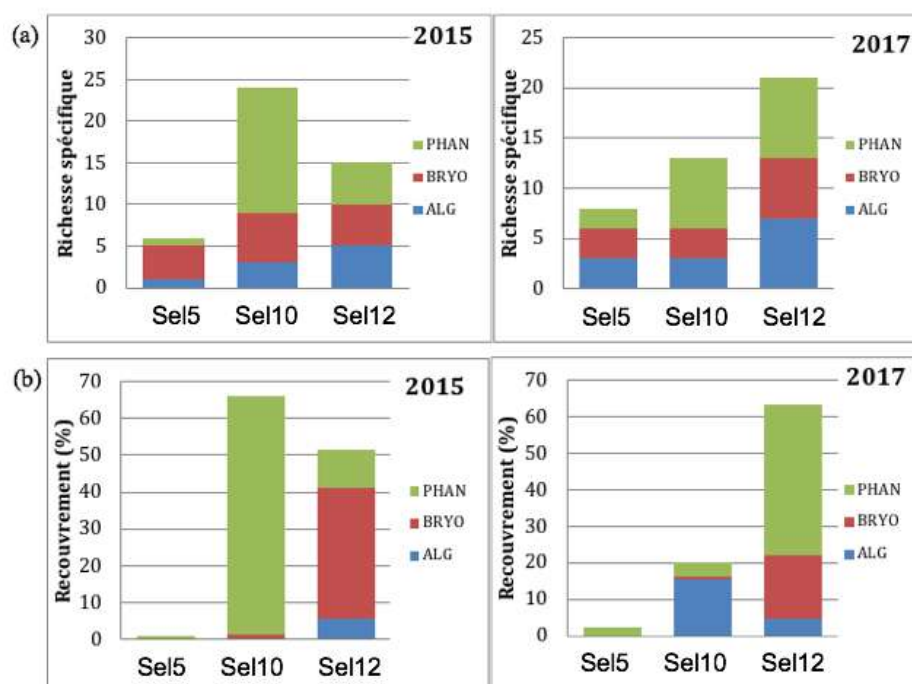
Des inventaires de terrain (relevés de végétation) ont été réalisés au cours du mois d'octobre 2017, hors épisodes hydrologiques pouvant influencer le développement de la végétation. Les identifications taxonomiques ont été vérifiées en laboratoire via des observations microscopiques pour les taxons difficiles (systématiquement pour les algues, bryophytes, callitriches, renoncules et potamots). Aucun macrophyte n'a été recensé sur les 3 stations inventoriées dans les retenues. L'état de référence pré-arasement réalisé en début d'été 2015 sur le cours principal de la Sélune, a mis en évidence une flore macrophytique typique de cours d'eau acides à Renoncules (*Ranunculo-Callitrichetum hamulatae*).

Le site en amont lointain (confluence avec le ruisseau de Chenilly, SEL05, **Figure 6**), présente en 2015 une flore macrophytique peu abondante (moins de 1% de végétalisation totale) et peu diversifiée (6 espèces), notamment du fait d'une mésologie peu propice au développement des végétaux (dominance des faciès lents, ombrage important).

Le site amont (à Saint Hilaire du Harcouët, SEL10) et le site aval des retenues (Pont de Signy, SEL12), sont comparables d'un point de vue milieu physique, si ce n'est leur hydrologie contrastée. En effet, le milieu physique à l'amont présente des zones pouvant émerger lors des faibles niveaux d'eau. Celles-ci permettent le développement de phanérogames héliophytes se superposant aux espèces strictement aquatiques, expliquant ainsi la plus forte diversité de ce groupe en amont proche SEL10 (15 espèces versus 5 en aval en 2015 ; **Figure 6**). La flore de ces deux sites est finalement diversifiée (une quinzaine d'espèces) et équilibrée entre groupes taxonomiques (algues, bryophytes et phanérogames). En 2017, les situations restent comparables mais la variabilité des niveaux d'eau entre les échantillonnages (ces derniers délimitant la zone d'échantillonnage : seuls les taxons ayant les pieds dans l'eau sont pris en

compte dans le relevé) a conduit à l'ajout (en aval) ou la perte (en amont proche) d'espèces de berges hélophytes.

En juillet 2015, l'hydrologie contrastée du site aval entraînait une limitation du développement des phanérogames immergés (10% de recouvrement), facilement arrachés lors des coups d'eau et a contrario, un développement important de la mousse *Octodicerias fontanum* (30% de recouvrement sur la station d'étude), caractéristique d'aval de moulins et de l'algue rhéophile *Lemanea* sp. (4% de recouvrement). En octobre 2017, si le recouvrement total est proche, ceux des groupes taxonomiques ont bien évolué (**Figure 6**) : *Octodicerias fontanum* présente une abondance réduite (10%), au contraire de la renouclée qui s'est développée (40%). Il est probable que des coups d'eau aient impacté le site, arrachant une partie du peuplement macrophytique qui a ensuite pu se régénérer, de manière plus importante pour les renouclées (dont la pousse est plus rapide que les bryophytes).

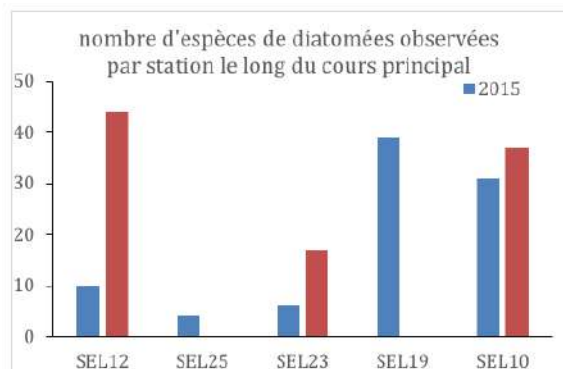


**Figure 6.** Répartition des différents groupes taxonomiques de macrophytes sur le cours principal de la Sélune (amont et aval des retenues) en 2015 et 2017 ((a) richesse spécifique et (b) abondance). Légende : PHAN = Phanérogames ; BRYO = bryophytes ; ALG = algues.

ii) **Les communautés planctoniques et biofilms** (Alexandrine Pannard, Ecobio ; Caroline Gorzerino, ESE)

Les opérations réalisées en 2017 ont consisté à analyser le reste des échantillons collectés lors des campagnes 2016, à compiler les données 2015-2016 et vérifier la cohérence du jeu de données, en croisant avec les données des sondes et de la littérature. La phase de mise en relation avec les autres compartiments biologiques et d'interprétation est en cours.

Les données sont également mises en lien avec les données saisonnières de la composition du phytoplancton et du biofilm, suivies dans le cadre du projet Biomonitoring. Une forte diminution des espèces de diatomées a été observée dans les barrages, avec maintien de la diminution à l'aval en 2015 (station de Signy SEL12) et une ré-augmentation en 2016 (**Figure 7**). Les données collectées en 2017 et les autres mois de l'année, vont permettre de mieux comprendre cette variabilité observée à la station de Signy. La composition en diatomées montre elle aussi une forte modification, avec un remplacement des espèces dominantes dans le biofilm au niveau des barrages.



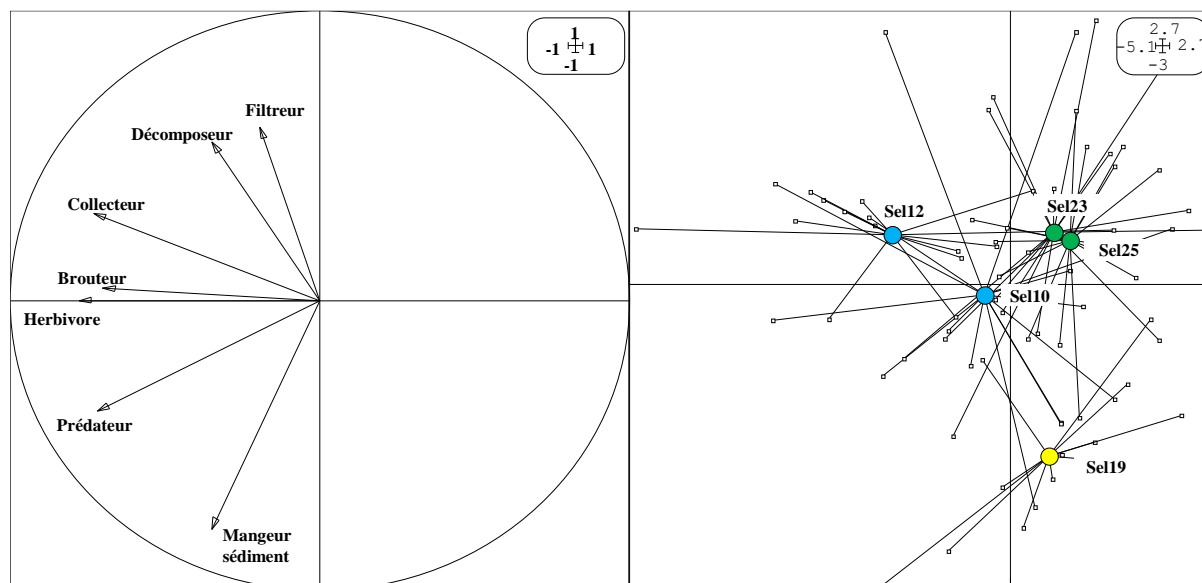
**Figure 7.** Nombre d'espèces de diatomées benthiques composant le biofilm aux stations du cours principal en juin 2015 et 2016. Les données 2016 de SEL25 et SEL19 sont toujours en cours d'acquisition (numérisation).

### iii) Les communautés d'invertébrés aquatiques (Christophe Piscart, Ecobio)

Des prélèvements d'invertébrés ont été réalisés au printemps 2017. Pour chaque site, quatre substrats artificiels constitués par 5L de galets ont été utilisés pour déterminer la structure trophique des communautés d'invertébrés. Le tri et la détermination ont été réalisés pour la campagne de 2017 mais l'identification des invertébrés est toujours en cours pour 2016.

Les résultats des campagnes d'échantillonnage depuis l'automne 2014 au printemps 2017 confirment l'effet des retenues sur la structure des communautés d'invertébrés de la Sélune (**Figure 8**). Les sites en eau courante (Sel10 et Sel 12) sont caractérisés par des communautés d'invertébrés plus riches en invertébrés brouteurs, collecteur et herbivores (à gauche sur l'axe F1). L'abondance de ces groupes est cohérente avec la position longitudinale de ces stations sur la Sélune. La faible hauteur d'eau permet le développement important du biofilm et des plantes aquatiques consommées par ces guildes trophiques. Cet effet est même plus visible sur le site Sel 12, en aval des barrages où la transparence de l'eau est encore plus forte du fait de la décantation de MES dans les retenues. Au contraire, les communautés des retenues (Sel 23 et Sel 25) ont plus de filtreurs et des décomposeurs. Le site du Pont de la République (Sel19) héberge une communauté d'invertébrés particulière, riche en mangeurs de sédiment. Cela est probablement lié au substrat de ce site, qui est constitué uniquement de sédiments fins et de terre, limitant la disponibilité des autres ressources.

Le traitement des échantillons collectés en 2016 devra permettre d'affiner les changements de structure trophique des communautés et de vérifier si ces changements dépendent de la saison. En effet, les conditions environnementales et particulièrement l'hydrologie et la température de l'eau sont très impactées par le barrage, cela pourrait donc avoir des conséquences non seulement sur la structure des réseaux trophiques mais également sur les productions des écosystèmes en raison d'accélération de cycles de développement pouvant conduire à des émergences précoces. Ces modifications des émergences pourraient impacter la structure des communautés automnales qui dépendent en grande partie de l'émergence et de la reproduction des communautés du printemps. Ces liens pourront être confirmés par le suivi saisonniers de 2014 à 2017 afin d'étudier la succession des communautés.



**Figure 8.** Résultats de l'analyse en composante principale (ACP) des abondances des invertébrés dans chaque guildes trophique au cours des 5 campagnes d'échantillonnage entre l'automne 2014 et le printemps 2017 sur les stations rivières (en bleue), lacustres (en vert) et intermédiaire (en jaune). a) Cercle des corrélations issues des deux premiers axes (PC1 et PC2). b) Position moyenne (centre de gravité) des 5 sites de la Sélune dans le plan factoriel.

iv) **Les écrevisses** (Jean-Marc Paillisson, Ecobio)

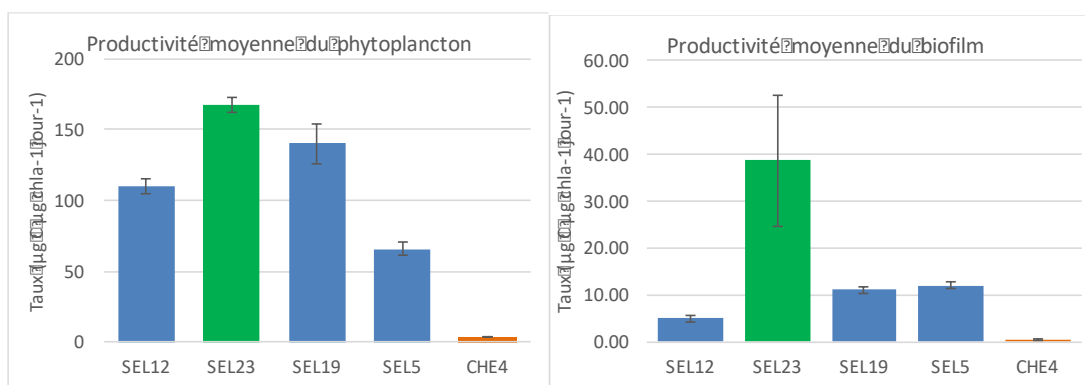
Aucune action supplémentaire n'a été réalisée en 2017, la caractérisation des populations d'écrevisses ayant été effectuée en 2015.

v) **Les communautés de poissons** (Jean-Marc Roussel, ESE ; Maxime Poupelin, ESE)

Aucune action n'a été réalisée en 2017.

2- **Activité photosynthétique** (Alexandrine Pannard, Ecobio ; Caroline Gorzerino, ESE)

Les opérations réalisées en 2017 ont consisté à revoir les calculs de production primaire, en fonction des résultats des analyses de chlorophylle obtenus après incubation au laboratoire en présence de  $^{13}\text{C}$  (**Figure 9**). Les résultats montrent une productivité maximale du phytoplancton sur le cours principal par rapport à l'affluent Chenilly 4, avec une augmentation dans les barrages et une légère diminution à Signy. Le biofilm présente une productivité moins forte que celle du phytoplancton (**Figure 9**). Les 3 stations lotiques du cours principal présente une productivité assez proche, la station du barrage présente la productivité maximale et la station de l'affluent Chenilly 4 la plus faible valeur. Une des explications possibles est que les espèces de diatomées observées spécifiquement dans le barrage, du genre *Achnanthisdium* qui sont favorisées par le faible hydrodynamisme, présentent une forte productivité, par rapport aux espèces des stations lotiques.

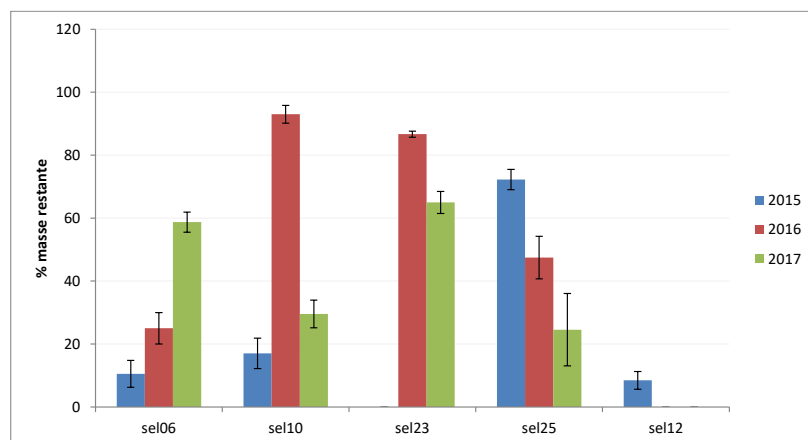


**Figure 9.** Résultats des taux d'incorporation de  $^{13}\text{C}$  par unité de biomasse (chlorophylle a) pour le phytoplancton (gauche) et le biofilm (droite) sur les stations d'études. L'histogramme vert indique le barrage de Vezins et celui orange, la seule station affluent mesurée, Chenilly 4. Les traits verticaux représentent les écarts types autour de chaque moyenne.

### 3- Activité de dégradation de la matière organique (Christophe Piscart, Ecobio)

Des mesures de vitesse de décomposition de litière d'aune ont été réalisées en avril 2017. Comme en 2016, les sacs de litière ont été placés pendant 1 mois à l'intérieur des substrats artificiels afin de prendre en compte les très fortes variations de niveau d'eau possibles sur certaines stations et pour permettre une meilleure interprétation des résultats de décomposition avec la faune présente dans les sacs. Nous avons retiré la station SEL 19 sur ce graphique car les données en 2015 (à cause de vandalisme) et 2017 (à cause des travaux) nous pas pu être récupérées.

Nos résultats confirment une très forte variabilité dans les vitesses de décomposition entre les sites en fonction des années, avec une vitesse en générale beaucoup plus faible en 2016 et plus forte en 2015 (**Figure 10**). En revanche, la décomposition des sites de la Roche qui Boit (SEL25) accélère progressivement de 2015 à 2017, alors que celle de la station la plus amont (SEL6) diminue dans le même temps.



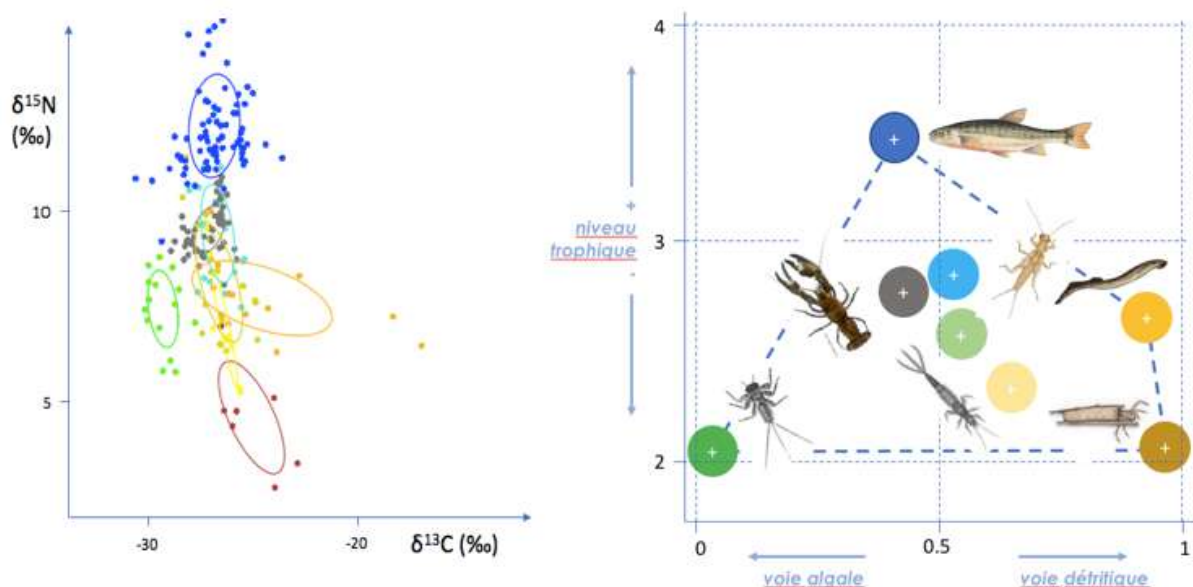
**Figure 10.** Pourcentage de masse restante de litière d'Aulne (moyenne  $\pm$  erreur standard) dans les sacs après 30j d'immersion sur les 5 stations de la Sélune entre 2015 et 2017.

D'une manière générale, la diminution de la vitesse de décomposition en 2016 sur les sites amont peut certainement s'expliquer par des crues importantes, à cette période sur le secteur amont, qui ont probablement perturbées les communautés de macroinvertébrés. Toutefois, seul le traitement des échantillons d'invertébrés qui est toujours en cours pour cette date apportera les preuves de cet impact. Cela serait aussi cohérent avec les plus faibles écarts observés sur le site aval (SEL12), pour lequel le contrôle du régime hydrologique par les barrages a sans doute permis de tamponner l'effet des crues (sédiments) dans et à l'aval des retenues.

L'absence de données de décomposition dans la retenue de Vezins en 2015 ne permet pas de mesurer l'effet de la retenue en 2015. En revanche la vitesse de décomposition dans la retenue de la Roche qui Boit (SEL25) par rapport aux sites en amont et en aval suggère une diminution possible de la vitesse de décomposition des feuilles. Malheureusement, les fortes variabilités observées sur les autres sites en amont des retenues, plus particulièrement en 2017, ainsi que l'effet des crues en 2016 ne nous permettent pas de confirmer définitivement l'impact des retenues sur la décomposition des litières.

#### 4- Analyse des réseaux trophiques (Jean-Marc Roussel, ESE ; Maxime Poupelin ESE ; Jean-Marc Paillisson, Ecobio)

Sur la base des résultats d'analyses isotopiques obtenus à partir des prélèvements fait en 2015 et 2016, une nouvelle analyse des données a été réalisée en 2017. Par rapport à l'approche précédente par ellipses (cf. rapport d'activité 2016), l'objectif ici est de visualiser l'architecture des réseaux trophiques de manière standardisée. Pour cela, nous avons utilisé le package tRophic Position sous R, qui pour chaque groupe trophique au sein du réseau, transforme les valeurs isotopiques de l'azote en niveau trophique (de 2 pour un consommateur primaire à 4 pour un prédateur), et les valeurs isotopiques du carbone en contribution de la voie algale et détritique (de 0 à 1, respectivement).



**Figure 11.** Représentation du réseau trophique type du cours principal de la Sélune (droite), à partir des données isotopiques C et N des différents groupes trophiques (gauche). Vert foncé : invertébrés brouteurs herbivores (voie algale), marron : invertébrés déchetteurs et lamproies juvéniles (voie détritique), puis invertébrés omnivores (vert clair et jaune clair), écrevisses (gris), invertébrés prédateurs (bleu clair) et poissons invertivores (bleu foncé).

Ce type d'analyse facilite les comparaisons entre les situations d'étude, comme le montre la **Figure 11** qui représente l'architecture type du réseau trophique sur le cours principal. Il est intéressant de noter que les contributions des voies algale et détritique dans les niveaux trophiques supérieures (poissons

invertivores, niveau trophique 3,5) sont assez proches. De plus, l'écrevisse invasive se place au centre de ce réseau, avec notamment un niveau trophique moyen très proche (2,8) de celui des invertébrés prédateurs. Un échantillonnage complémentaire est prévu en 2018 pour permettre de faire ce type d'analyse en comparant les stations amont et aval des barrages.

5- **Mise au point du Barcoding alimentaire** (Dominique Barloy, Jean-Marc Roussel, ESE)

Suite aux difficultés techniques rencontrées en 2015, l'approche moléculaire des relations trophiques (barcoding alimentaire) a été abandonnée. Les conséquences sur l'avancement du projet sont minimales, puisque le barcoding alimentaire était surtout envisagé comme un complément à l'approche classique par analyses de isotopes stables (paragraphe ci-dessus). Néanmoins, la recherche d'ADN d'écrevisses dans les contenus digestifs de prédateurs (loutre d'Europe et anguille européenne, cf. Partie I.2. de ce rapport) est en cours, et permettra de mieux comprendre le rôle de proie de l'écrevisse dans le réseau trophique.



### **Partie III. Sur les 8 stations pilote en affluents**

	2014		2015		2016		2017	
	S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2
<b>8 stations pilote sur 5 affluents de la Sélune</b>								
1- Etude des communautés végétales et animales			X		X			
2- Activité photosynthétique			X		X			
3- Dégradation de la matière organique				X	X			
4- Analyse des réseaux trophiques (isotopes stables et barcoding alimentaire), prélèvements			X		X		X	
<b>Travaux en laboratoire</b>								
Tri et détermination taxonomique			X	X	X		X	
Préparation des échantillons pour l'ergostérol		X	X	X	X			
Préparation des échantillons pour les isotopes		X	X	X			X	X
Dosage C, N et P dans les végétaux		X		X	X			
Préparation et analyse de barcoding alimentaire			X	X	annulé			
Analyse de l'ergostérol (prestation externe)				X				
Analyse isotopes stables (prestations externes)				X	X	X	X	X
<b>Interprétation des résultats ; valorisation</b>			X	X	X	X	X	X

#### **1- Etude des communautés végétales et animales en place (collectif ESE et Ecobio).**

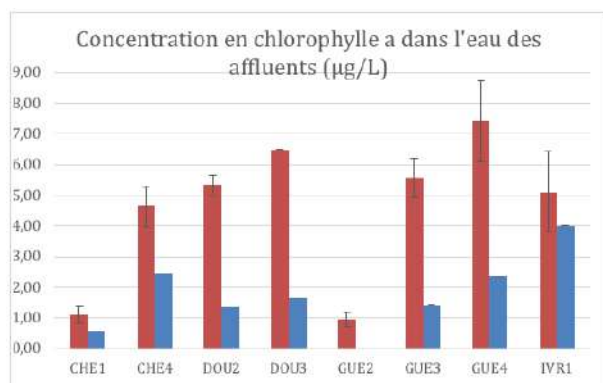
Le travail a pour objectif de décrire les biocénoses aquatiques, végétales et animales, en place sur les 8 stations pilote choisies. Il s'appuie sur des inventaires réalisés à partir des méthodes spécifiques aux différents groupes taxonomiques et conventionnellement utilisées dans ce type de travail. Il doit permettre la caractérisation des communautés, d'un point de vue structurel (détermination taxonomique, abondance, biomasse) et fonctionnel (production primaire, dégradation de la matière, production secondaire, organisation des réseaux trophiques). Les éléments de méthodes communs à l'étude des stations du cours principal sont disponibles dans la partie précédente (Partie II) et ne sont pas réécrits ici.

##### **i) Les communautés végétales aquatiques (Julie Coudreuse, ESE)**

Ces travaux sont terminés, il n'y a pas eu de nouvelles actions en 2017.

##### **ii) Les communautés planctoniques et biofilms (Alexandrine Pannard, Ecobio ; Caroline Gorzerino, ESE)**

Tout comme pour le cours principal, les opérations réalisées en 2017 ont consisté à analyser le reste des échantillons stockés lors des campagnes 2016, à compiler les données 2015-2016 et vérifier la cohérence du jeu de données, en croisant avec les données des sondes et de la littérature. Les résultats pour la concentration en phytoplancton montrent encore une très forte variabilité entre les années (**Figure 12**). La phase de mise en relation avec les autres compartiments biologiques et d'interprétation est en cours.



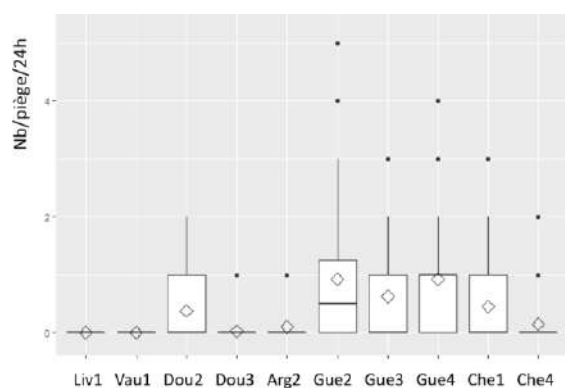
**Figure 12.** Biomasses de phytoplancton mesurées par dosage de la chlorophylle a sur les stations d'études en 2015 (rouge) et 2016 (bleu). Les traits verticaux représentent les écarts types autour de chaque moyenne.

iii) **Les communautés d'invertébrés aquatiques** (Christophe Piscart, Ecobio)

Il n'y a pas eu d'activité nouvelle en 2017 sur cette partie. Toutefois, des prélèvements d'invertébrés représentant les principales guildes trophiques ont été réalisés sur les deux nouveaux affluents, le Vaux Roux (Vau1), et l'Argonce (Arg2), pour les besoins de l'analyse isotopiques des réseaux trophiques (cf. paragraphe III.4.)

iv) **Les écrevisses** (Jean-Marc Paillisson, Ecobio ; Maxime Poupelin, ESE)

Les investigations sur les réseaux trophiques ont été étendues, en 2017, à deux affluents supplémentaires, choisis de façon à décrire des configurations sans écrevisse (cf. paragraphe III.4. plus loin). Le travail a consisté, ici, à valider l'absence d'écrevisses sur ces deux stations à l'aide d'une session de piégeage réalisée en juin 2017. Aucune écrevisse n'a effectivement été détectée sur la station la plus en aval (Vaux Roux, Vau1), alors que deux individus ont été capturés sur la seconde station située bien plus au cœur de la zone connue pour être envahie par l'espèce (Argonce, Arg2). Ce dernier résultat ne remet néanmoins pas en cause l'attendu fixé initialement, car il est peu probable qu'une présence aussi faible d'écrevisses puissent modifier les réseaux trophiques. Les profils d'abondance d'écrevisses sur les 10 stations d'affluents sont reportés **Figure 13**. Les stations sur la Gueuche et en aval du ruisseau de Chenilly accueillent de fortes populations d'écrevisses comparativement aux autres stations.



**Figure 13.** Abondance d'écrevisses Signal (CPUE, captures par unité d'effort, soit le nombre d'écrevisses par piège et par 24h) sur les dix stations affluents. Sur les boîtes à moustache sont reportés les valeurs médianes (barre horizontale) ainsi que les moyennes (losanges). NB : une valeur extrême

à 8 individus / piège / 24h sur la Gueuche (station Gue4) n'apparaît pas sur le graphique, pour faciliter la lecture.

v) **Les communautés de poissons** (Jean-Marc Roussel, ESE ; Maxime Poupelin, ESE)

Les deux nouveaux affluents, le Vaux Roux (Vau1), et l'Argonce (Arg2), ont été inventoriés pour les besoins de l'analyse des réseaux trophiques (cf. paragraphe III.4. plus loin). Nous disposons maintenant de données de biomasse de poisson, exprimées en grammes pour 100 m<sup>2</sup>, pour 10 stations affluents (**Figure 14**). On remarque une forte variabilité des valeurs de biomasse de poissons selon les stations, dont une grande partie s'explique par la composition en espèces. En effet, les deux espèces les plus présentes (en biomasse) sont la truite et l'anguille, qui tirent les biomasses des stations vers le haut lorsqu'elles sont présentes. C'est notamment le cas pour Livret (anguille), Chenilly et l'Argonce (truite). Même si la diversité spécifique est plutôt plus faible dans les affluents que dans le cours principal, il faut noter que certaines stations en affluent s'illustrent par des biomasses très fortes (Che4, où la biomasse de chabot *Cottus gobio* est un record) ou très faible (Gue3, sur la Gueuche).

La présence de juvéniles de lamproie sur les stations a été vérifiée par des sondages complémentaires dans les banquettes de sédiments fins (**Figure 14**). Cette donnée est donc fiable, mais les valeurs de biomasse ne doivent être considérées car la méthode d'inventaire par pêche électrique n'est pas efficace sur cette espèce. Sur le cours principal enfin, on confirme l'extraordinaire concentration d'anguille au pied du barrage de la Roche qui Boit (station Sel12), et la présence de chevesne sur la partie haute de la Sélune (Sel5), dont les biomasses ne sont pas correctement quantifiées par la méthode de pêche électrique mise en œuvre.

	Sel 12	Sel 10	Sel 6	Sel 5	Liv 1	Vau 1	Arg 2	Dou 2	Dou 3	Gue 2	Gue 3	Gue 4	Che 1	Che 4	TOTAL
<i>nb espèces</i>	6	6	6	7	3	3	6	5	4	5	2	3	4	5	9
<i>S. trutta</i>			26	146	80	375	377	270	104	3	142	333	588	307	2749
<i>A. anquilla</i>	1627				407										2034
<i>C. gobio</i>	25	137	69	26			58	64	75	203	11		90	542	1300
<i>B. barbatulus</i>	3	17	80	105		33	111	3	98	27		14	47	85	622
<i>P. phoxinus</i>	14	9	36	109			74	8		37			14	75	376
<i>G. gobio</i>	20	88	32	251			6								396
<i>R. rutilus</i>		203			15										218
<i>(L. planeri)</i>	1	17	18	31		3	5	6	6	8		13		10	(117)
<i>(S. cephalus)</i>				(748)											(748)
<b>TOTAL biomasse</b>	<b>1691</b>	470	259	667	<b>502</b>	411	632	350	282	278	<b>153</b>	360	739	<b>1019</b>	8560

**Figure 14.** Nombre d'espèces de poisson inventoriées sur les stations d'étude, et répartition des biomasses (en g.100m<sup>-2</sup>) par stations et par espèces.

## 2- Activité photosynthétique (Alexandrine Pannard, Ecobio ; Caroline Gorzerino, ESE)

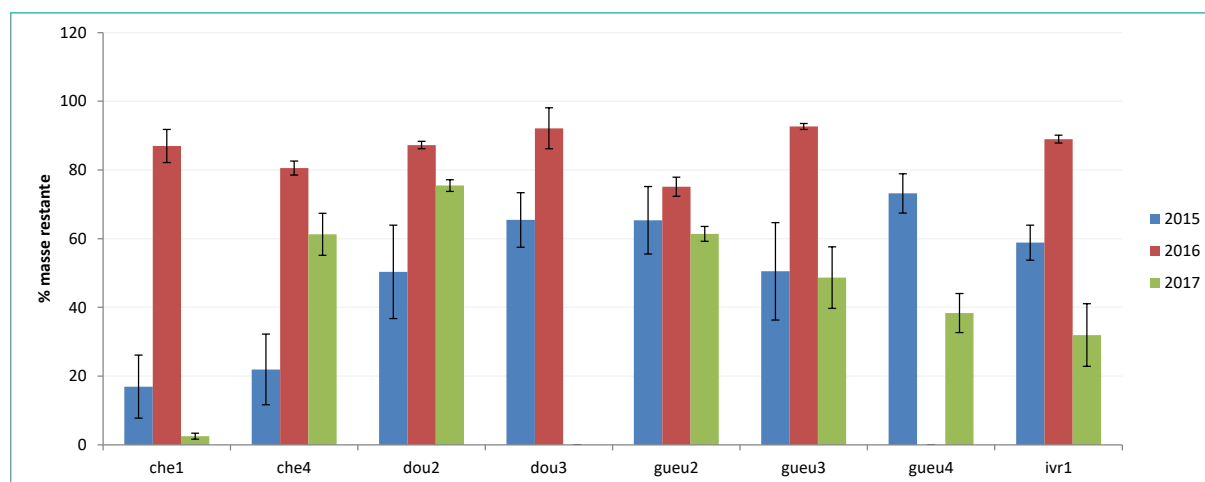
Les résultats obtenus sur Chenilly sont présentés dans la Partie II.2. en parallèle aux résultats obtenus sur la Sélune.

## 3- Activité de dégradation de la matière organique (Christophe Piscart, Ecobio)

En 2016, nous avons suivi la décomposition de 18 types de litières communes dans les forêts et les jardins de la région. L'ensemble de ces espèces permettait d'avoir une grande variété de compositions physiques et chimiques représentatives de différents types d'environnement avec des espèces de zones humides et d'autres de milieux plus secs. Nos résultats avaient mis en évidence des différences très importantes en termes de vitesse de décomposition en fonction de nos espèces avec des pertes de masses variant de 6,1 à 65,8% après 30j d'immersion. Nous avons pu confirmer que la palatabilité des litières semble donc fortement liée à la composition chimique de celles-ci. Ainsi, la composition élémentaire des feuilles semble être importante dans le processus de décomposition et en particulier la quantité d'Azote et de Soufre qui sont significativement corrélés à la décomposition.

En 2017, nous avons travaillé sur des mélanges de feuille en associant des feuilles de « bonne qualité » avec des feuilles de « mauvaise qualité » afin de mieux comprendre les conséquences de la mixité des feuilles dans la décomposition. Les résultats montrent que l'effet synergique entre des feuilles différentes est plus fort quand on mélange des feuilles de « bonne qualité ». Contrairement à nos attentes, en mélangeant des feuilles de « mauvaise qualité » avec des feuilles de « bonnes qualité », les vitesses de décomposition mesurées ne montrent pas d'amélioration de la décomposition des feuilles de mauvaise qualité. La présence de feuilles facilement assimilables par l'écosystème est donc très importante pour assurer un soutien efficace aux réseaux trophiques.

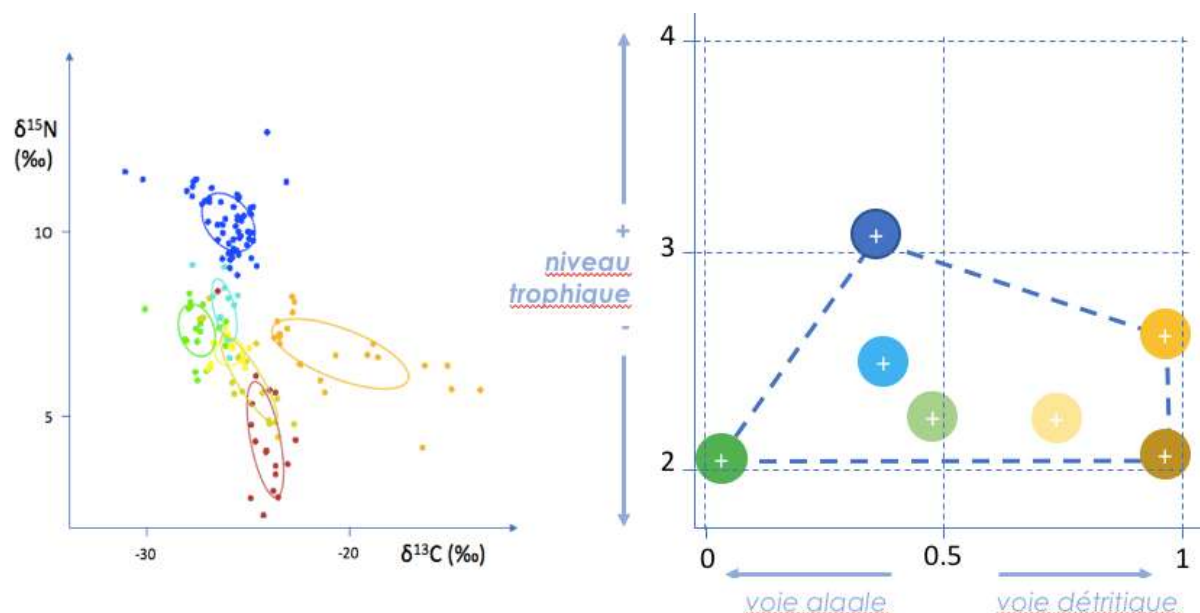
Finalement, des mesures de vitesse de décomposition de litière d'Aulne ont été mises en place sur les 8 stations pilotes des affluents en mars 2015, mars 2016 et avril 2017 avec le même lot de feuilles afin d'estimer la variabilité annuelle de la vitesse de décomposition des litières (**Figure 15**). Nos résultats montrent une très forte variabilité dans les vitesses de décomposition malgré le fait que ces expériences aient été réalisées à la même période. D'un point de vue général, la vitesse de décomposition des litières a été beaucoup plus faible en 2016 qu'en 2015 ou 2017. Comme sur le cours principal de la Sélune, les fortes crues en 2016 sur la partie amont du bassin versant de la Sélune pourraient expliquer cette diminution. Les données sur les communautés d'invertébrés associées à ces litières, en cours de traitement, devraient nous apporter des résultats importants pour expliquer ces différences.



**Figure 15.** Pourcentage de masse restante de litière d'Aulne (moyennes  $\pm$  Erreur standard) dans les sacs après 30j d'immersion dans les 8 stations des affluents de la Sélune de 2015 à 2017.

#### 4- Analyse des réseaux trophiques (Jean-Marc Roussel, ESE ; Jean-Marc Paillisson, Ecobio ; Maxime Poupelin, ESE)

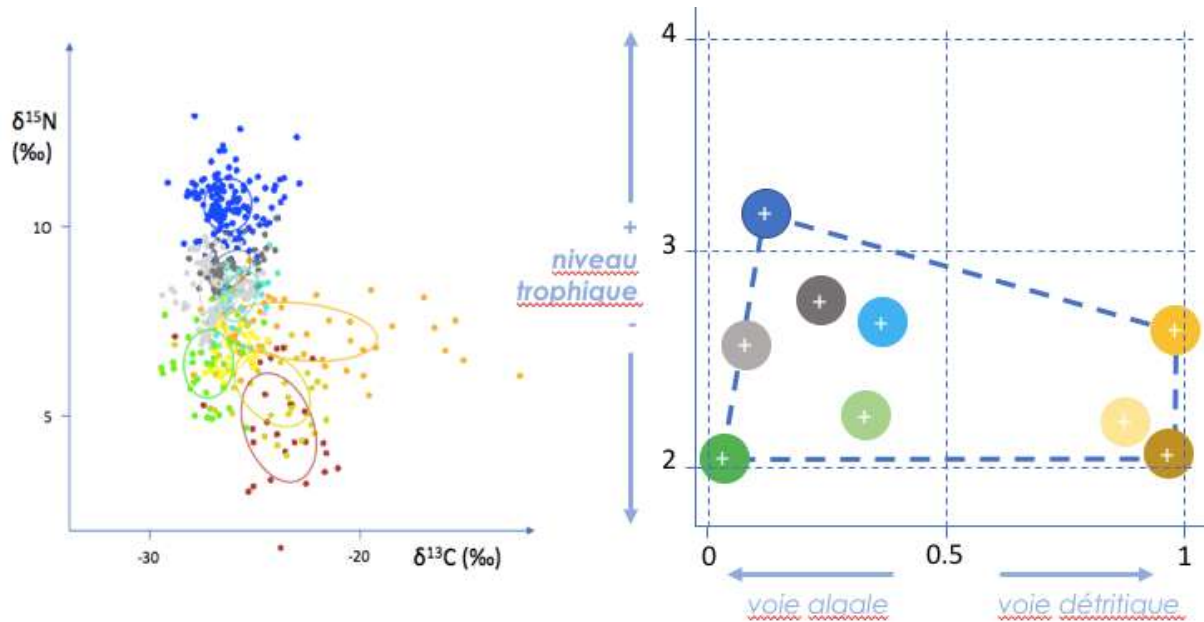
Les investigations sur les réseaux trophiques ont été étendues, en 2017, à deux affluents supplémentaires, choisis de façon à décrire des configurations sans écrevisse. En s'appuyant sur la même démarche que celle expliquée au paragraphe II-4 pour le cours principal de la Sélune, nous pouvons représenter l'organisation du réseau trophique en affluent, en l'absence d'écrevisse (**Figure 16**). Contrairement à nos attentes vis-à-vis de réseaux trophiques dans des petits cours d'eau de tête de bassin, il s'avère que la balance entre voie algale et voie détritique, analysée par le biais des isotopes stables du C et de l'N, ne soit pas fondamentalement modifiée dans les affluents sans écrevisse comparé au cour principal (cf. **Figure 11**). Cela signifierait que le C issu de la production autotrophe tient une place importante dans les niveaux trophiques supérieures. A ce titre, on note que le niveau trophique moyen pour les poissons invertivores tend à baisser légèrement (3,1) dans ces affluents par rapport à la Sélune (3,5), ce qui souligne que les chaînes alimentaires seraient plus courtes en affluents.



**Figure 16.** Représentation du réseau trophique type des affluents de la Sélune (droite), à partir des données isotopiques C et N des différents groupes trophiques (gauche). Vert foncé : invertébrés brouteurs herbivores (voie algale), marron : invertébrés décheteteurs et lamproies juvéniles (voie détritique), puis invertébrés omnivores (vert clair et jaune clair), invertébrés prédateurs (bleu clair) et poissons invertivores (bleu foncé).

Si l'on considère les affluents où l'écrevisse est présente, le même type de représentation souligne une situation assez différente (**Figure 17**). Dans ce cas en effet, l'écrevisse invasive se place plus nettement sur la voie algale et semble entraîner les poissons invertivores dans cette même direction. Cela signifierait que le C circulant dans les chaînes alimentaires jusqu'aux poissons proviendrait, de manière plus marquée, des producteurs autotrophes sur les affluents où l'écrevisse est présente. On peut remarquer parallèlement que le niveau trophique des écrevisses juvéniles est identique (2,8) à ce qui est observé dans le cours principal de la Sélune pour les adultes (cf. **Figure 11**), et également proche de celui des invertébrés prédateurs. Par contre, les écrevisses adultes sont très nettement sur la voie algale (**Figure 17**). Ces résultats restent à confirmer par des analyses de données complémentaires,

et leur interprétation reste à affiner, notamment au regard des résultats obtenus sur les communautés d'invertébrés, la dégradation des litières, et les activités photosynthétiques sur les affluents.



## Documents complémentaires au rapport final

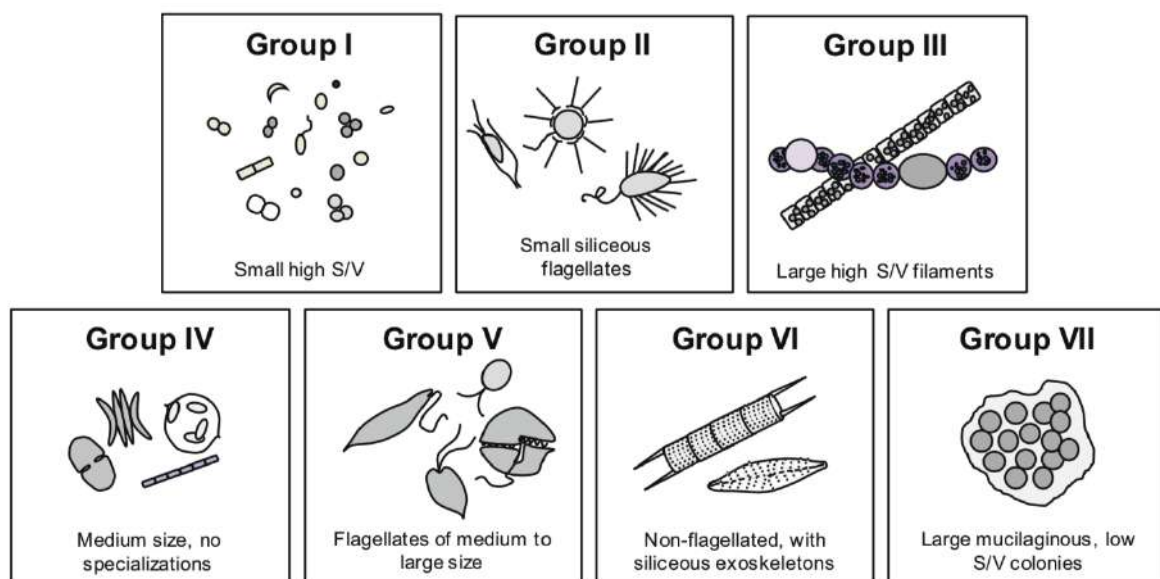
## 1. Objectifs

Le travail a pour objectif de décrire les biocénoses aquatiques, végétales et animales, en place sur les 5 stations de référence choisies. Il s'appuie sur des inventaires réalisés à partir des méthodes spécifiques aux différents groupes taxonomiques et conventionnellement utilisées dans ce type d'étude. Il doit permettre la caractérisation des communautés, d'un point de vue structurel (détermination taxonomique, abondance, biomasse) et fonctionnel (production primaire, dégradation de la matière, production secondaire, organisation des réseaux trophiques). Ainsi, les études menées sur les producteurs primaires (phytoplancton et périphyton), le zooplancton et les invertébrés aquatiques devaient permettre de comprendre le fonctionnement actuel (phase pré-arasement) de la Sélune et notamment celui des deux barrages successifs, mais aussi de décrire la structure fonctionnelle des différents compartiments.

## 2. Méthodes et protocoles mis en œuvre

Afin d'étudier les réseaux trophiques de la Sélune, différents compartiments planctoniques et benthiques ont été étudiés de 2014 à 2017 pour les stations SEL10, SEL19, SEL23, SEL25 et SEL12 (Saint-Hilaire à Pont de Signy), comme présenté ci-après.

Tout d'abord, les paramètres physico-chimiques des stations d'étude ont été caractérisés (température, conductivité, pH, oxygène dissous et turbidité) grâce à une sonde multiparamétrique (Idronaut) pour toutes les stations étudiées, lenticues et lotiques et lors de chaque campagne mensuelle de prélèvements. Des prélèvements d'eau ont également été effectués afin d'analyser les concentrations en nutriments, grâce à un autoanalyseur (Brann and Luebbe, Axflow, France).



*Fig. 1 : Représentation schématique des 7 groupes fonctionnels basés sur la morphologie des espèces (Kruk, C., Huszar, V. L., Peeters, E. T., & al. (2010). A morphological classification capturing functional variation in phytoplankton. Freshwater biology, 55(3), 614-627).*



Pour l'étude du phytoplancton, des prélèvements d'eau ont été réalisés dans les stations lotiques (1 profondeur) et dans les stations lenticques (3 profondeurs dans la colonne d'eau) de la Sélune. La biomasse de phytoplancton a été mesurée in situ grâce à une sonde de fluorescence (Idronaut), et ex situ par des mesures de fluorescence au phytoPAM et des dosages de chlorophylle a en laboratoire (méthode de Lorenzen, 1967). La structure des communautés phytoplanctoniques a également été déterminée par les mesures au phytoPAM (Phyto Pulse Amplitude Modulated ; Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Allemagne). Cet appareil permet en effet de séparer 3 principaux groupes taxonomiques en assemblage mixte, en se basant sur leurs spectres d'absorption et d'émission aux longueurs d'ondes de la chlorophylle a et de pigments accessoires spécifiques à chacun de ces groupes. Il est ainsi possible de mesurer la biomasse et l'activité photosynthétique des GREEN, regroupant les chlorophytes, les BLUE, regroupant les cyanobactéries avec phycocyanine et les BROWN, regroupant les diatomées, les dinoflagellés et les chrysophytes. Les peuplements planctoniques ont également été fixés au lugol acide et conservés à l'obscurité et à 4°C, jusqu'au comptage au microscope optique pour confirmation de la structure des communautés. Les densités d'espèces dans la colonne d'eau sont alors exprimées en unité de cellule par ml (nombre de cellules.ml<sup>-1</sup>). La structure des communautés est exprimée d'un point de vue fonctionnel selon la méthodologie développée par *Kruk et al., 2010*, comportant 7 groupes distincts (Fig. 1).

La biomasse et la composition du zooplancton sont également été suivies à chaque station. Un échantillon en surface et un au niveau de la zone euphotique (stations lenticques) sont collectés grâce à une trappe Schindler-Patalas d'un volume de 30 L. Le zooplancton est fixé à l'éthanol 50-70% et identifié sous loupe binoculaire.

Pour l'étude du périphyton (partie photosynthétique), des substrats artificiels ont été mis en place sur les différentes stations afin de pallier l'éventuelle absence de substrat à racler et de pouvoir standardiser et comparer les différentes stations. Pour le cours principal de la Sélune, les stations en zone lenticque (SEL19, SEL 23 et SEL 25), 2 cagettes ont été positionnées dans la colonne d'eau à 1m et 2m de profondeur, fixées à une bouée (Figure 2, à gauche). Ces cagettes contenaient 6 lames de verre de 30 x 10 x 3 mm. Pour les stations situées en zone lotique (SEL 10, et SEL 12), une cagette contenant également 6 lames a été fixée au fond du lit. Après 1 mois d'immersion, les lames (Figure 2, au centre) ont été retirées et raclées afin de réaliser différentes analyses : détermination du poids sec sans cendre indiquant la proportion de matière organique, la détermination de la chlorophylle *a* (lyophilisation puis méthode de Lorenzen, 1967) et étude des communautés. Le poids sec sans cendre est mesuré au laboratoire après un passage à l'étuve (72h, 105°C) puis au four sans cendre (1h, 500°C), pour estimer la quantité de matière organique présente dans le biofilm pour chaque station. Une lame non raclée a permis de réaliser des mesures au Phyto-PAM : mesure de l'activité photosynthétique et estimation de la chlorophylle *a*. La structure des communautés a été réalisée plus spécifiquement pour les diatomées par un bureau d'études (dénombrement et identification) et est exprimée selon les guildes trophiques de *Rimet et Bouchez, 2012* (4 guildes).



*Fig. 2. Photographies d'une cagette pouvant contenir 6 lames de verre pour l'étude du biofilm (à gauche), d'une lame colonisée (au milieu) et d'un substrat artificiel utilisé pour l'échantillonnage d'invertébrés aquatiques (à droite).*

Afin d'étudier la structure trophique des communautés d'invertébrés aquatiques de la Sélune, des prélèvements ont été réalisés pour chacune des 5 stations aux saisons suivantes : automne 2014, printemps 2015, automne 2015, printemps 2016 et printemps 2017. Pour chaque site, quatre substrats artificiels constitués par 3L de galets encagés ont été utilisés (Fig. 2) ; cette méthode a été retenue afin de limiter l'effet substrat dans la comparaison inter-sites. Après 1 mois de colonisation sur site, les échantillons étaient récoltés puis triés et enfin déterminés au laboratoire. La biomasse des différents groupes fonctionnels (Collecteur, Déposit, Filtreur, Herbivore, Prédateur, Décomposeur, Brouteur) a ensuite été calculée.

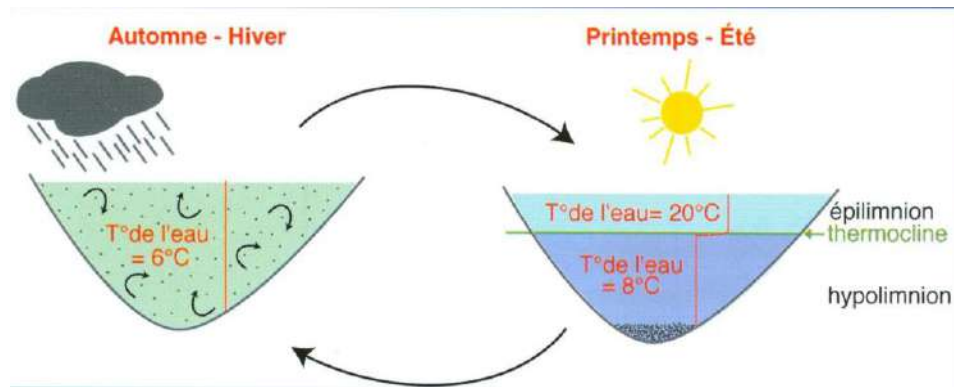
### **3. Fonctionnement écologique des barrages**

Le suivi réalisé entre 2014 et 2017 a permis de caractériser le fonctionnement physico-chimique et écologique des barrages. De par leur forme en lit de rivière, ces barrages ont une composante longitudinale très forte, facilitant le suivi des masses d'eau dans le temps. Le second barrage présente un temps de séjour très court par rapport au premier, de quelques jours seulement (Tableau 1).

Tableau 1: caractéristiques des deux barrages (données \*Agence de l'Eau et \*\*Aguascope, 2004) :

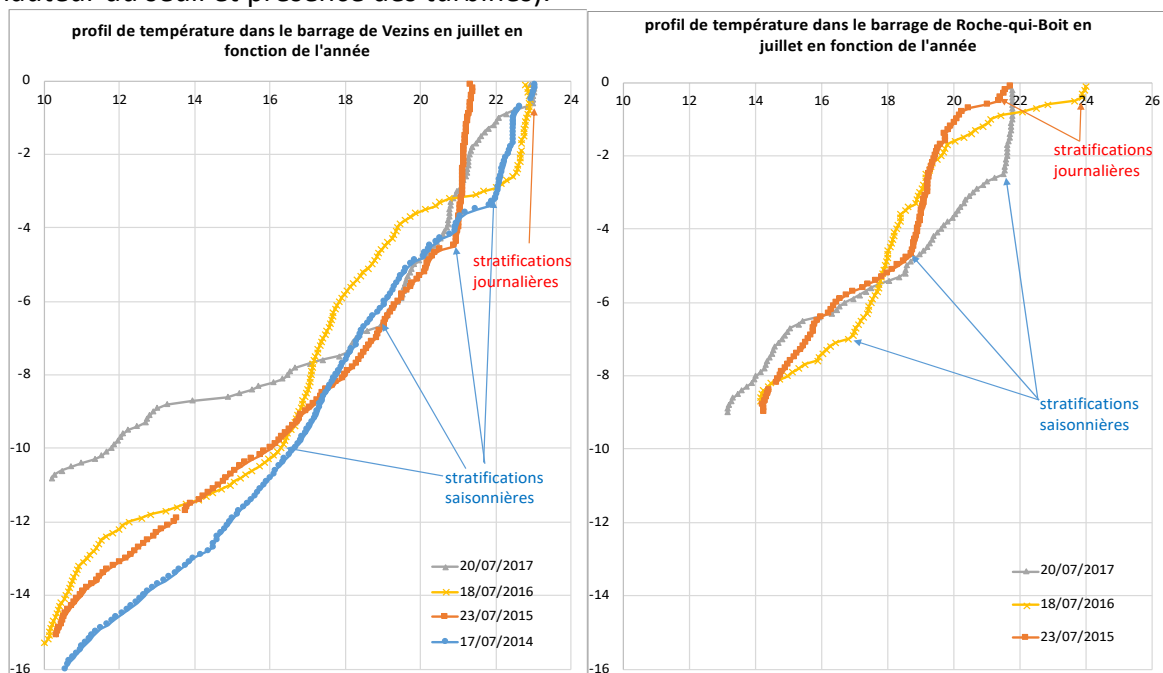
	Barrage de Vezins (1932)	Barrage de Roche-qui-Boit (1919)
Code lac*	VEZ50	ROQ50
Surface (km <sup>2</sup> )*	1.7	0.29
Volume (m <sup>3</sup> )*	19 920 000	90 000
Profondeur maximale (m)	31	16
Profondeur moyenne (m)	12	3.1
Temps de résidence (jours)**	25 à 60 jours	2 à 5 jours

Le mélange des masses d'eau est un facteur déterminant dans le fonctionnement des plans d'eau, c'est pourquoi les plans d'eau peu profonds, facilement mélangés par le vent, auront un fonctionnement écologique très différent des plans d'eau dits profonds qui mélangent seulement une partie de l'année (Fig 3). Les barrages de Vezins et de la Roche-qui-Boit présentent une profondeur maximale de 31 et 16m respectivement (Tableau 1), ce qui limite le mélange de la colonne d'eau par le vent. Cependant, leur faible temps de séjour (Tableau 1) rend la colonne d'eau plus sensible au mélange vertical et la profondeur de la couche de mélange plus variable avec un large métalimnion (Fig 3).



*Fig. 3 : Figure montrant l'alternance saisonnière des mécanismes de stratification et déstratification dans les plans d'eau profonds (>3m), issue de Leitao et Couté, 2005, Guide pratique des cyanobactéries planctoniques du Grand Ouest de la France, rapport AESN.*

Les barrages de Vezins et de Roche-qui-Boit présentent ainsi une stratification thermique saisonnière (Fig. 5A et 6A), avec des couches de mélange (épilimnion) variant entre 3 et 10 m dans le premier barrage et entre 3 et 7 m dans le second (Fig. 4). Des stratifications journalières de 2 à 5 °C ont également été observées lors du suivi (Fig. 4), essentiellement dans le second barrage, ce qui s'explique par sa plus faible exposition au vent par rapport au premier barrage. Ce second barrage est cependant plus turbulent que le premier en raison du temps de séjour très court (quelques jours), et de la transition turbulente entre les 2 barrages (hauteur du seuil et présence des turbines).

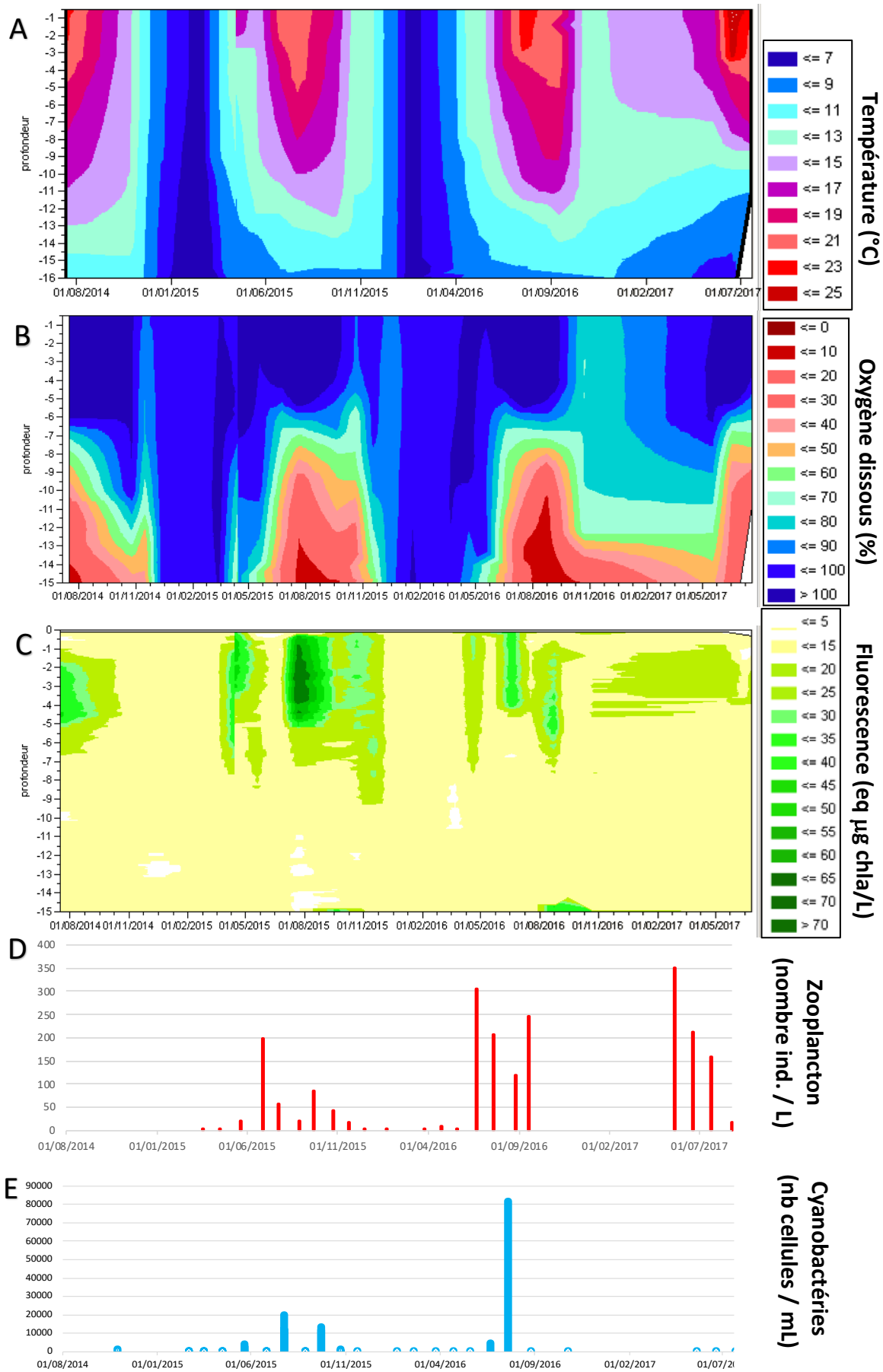


*Fig. 4 : Profil de température en fonction de la profondeur (m) dans les barrages de Vezins (à gauche) et de Roche-qui-Boit (à droite). Les stratifications thermiques journalières (en rouge) et saisonnières (en bleu) sont indiquées par des flèches. L'extrémité des flèches bleues indiquent donc la profondeur de la thermocline (couche de mélange, appelée également épilimnion).*

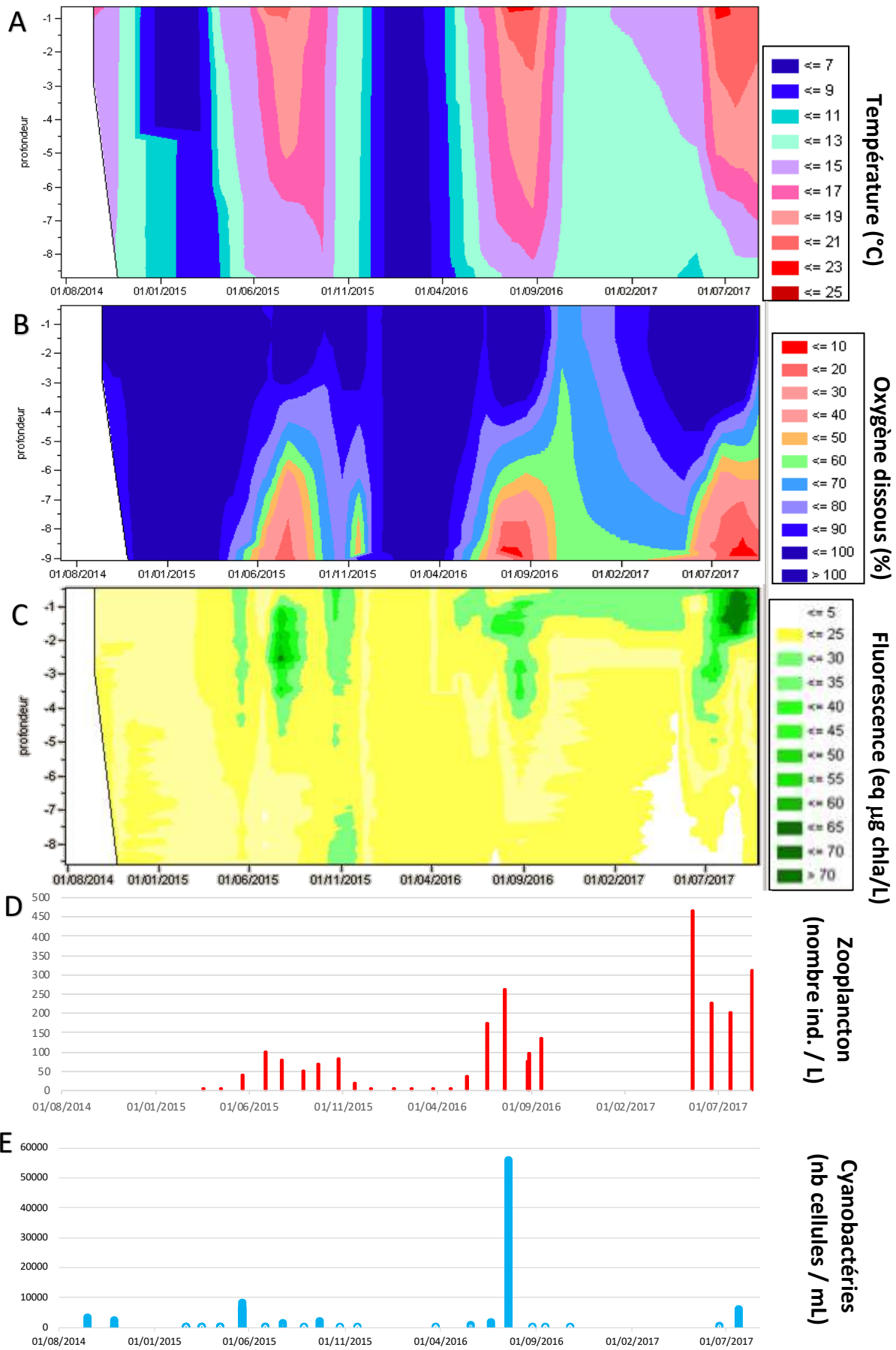
A l'échelle saisonnière, les deux barrages présentent une dynamique de stratification/déstratification très similaire, même si la couche de mélange (épilimnion) est un peu moins profonde dans le second barrage (Fig. 5 et 6). Cette stratification thermique saisonnière des masses d'eau limite les échanges verticaux et entraîne une réduction des

concentrations en oxygène dès la thermocline dans les eaux du métalimnion et de l'hypolimnion (Fig. 5B et 6B). L'hypolimnion est dominé par les processus de décomposition de la matière organique et par la respiration des microorganismes, qui appauvrissent le milieu en oxygène (ratio photosynthèse / respiration < 1). Les sur-saturations en oxygène liées à la production primaire dans l'épilimnion sont restées ponctuelles.

Au niveau biologique, un développement saisonnier de phytoplancton est observé dans l'épilimnion dans les deux barrages. Alors que les communautés autotrophes sont majoritairement benthiques dans les écosystèmes lotiques de type rivière, c'est le phytoplancton qui domine et est à la base du réseau trophique dans les barrages. Les barrages, en modifiant le temps de résidence de l'eau et sa température, favorisent le développement des communautés phytoplanctoniques. Lorsque cette modification hydrologique est associée à des apports conséquents d'azote et de phosphore du bassin versant, les communautés phytoplanctoniques sont alors régulièrement dominées en été par des cyanobactéries, potentiellement toxiques. C'est ce qui a été observé dans ce suivi, particulièrement dans le premier barrage.



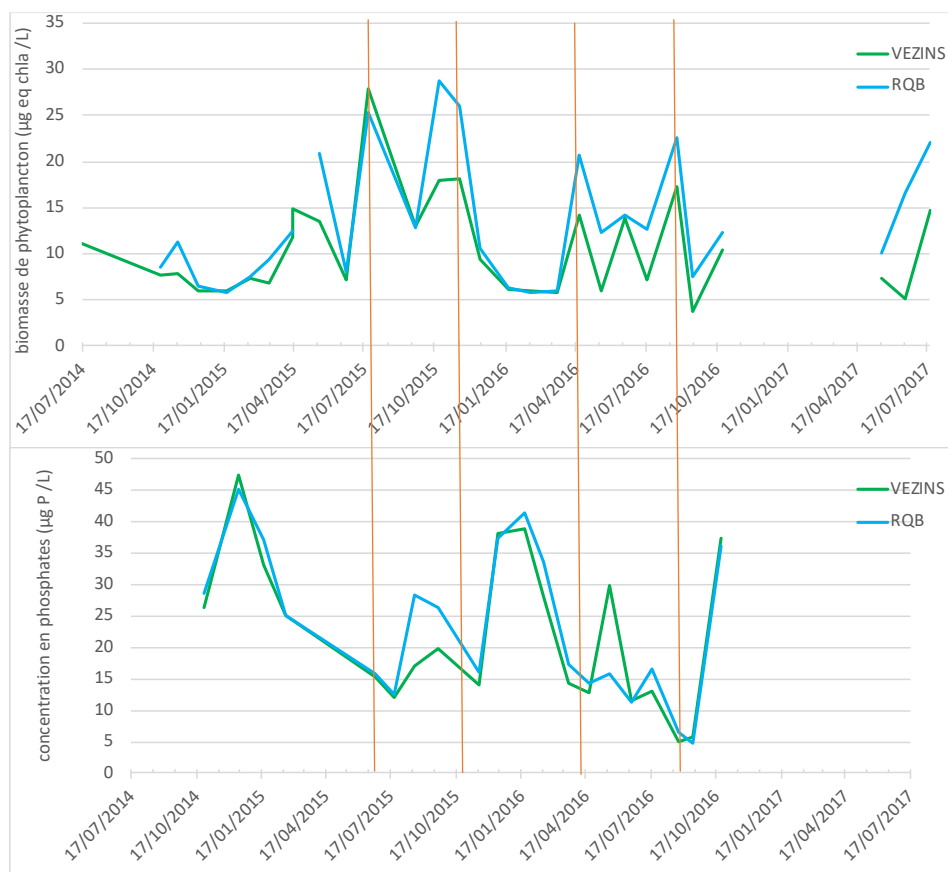
*Fig.5: isoclines de (A) température, (B) d'oxygène et (C) de fluorescence en fonction de la profondeur et du temps dans le Barrage de Vezins. Abondances (D) du zooplancton et (E) des cyanobactéries.*



**Fig.6 :** isoclines de (A) température, (B) d'oxygène et (C) de fluorescence en fonction de la profondeur et du temps dans le Barrage de Roche-qui-Boit. Abondances (D) du zooplancton et (E) des cyanobactéries.

A l'échelle saisonnière, la biomasse totale de phytoplancton dans les barrages suit le rayonnement solaire. Cependant, au cours de chaque année, deux chutes de biomasses ont été observées, l'une en juin et l'autre plus tardive pendant l'été (Fig. 5C et 6C). Ces variations de la biomasse de phytoplancton sont induites par un fort développement de zooplancton (Fig. 5D et 6D), qui induit une sur-exploitation de la ressource phytoplanctonique, un éclaircissement de l'eau ('phase d'eau claire') et un effondrement ensuite de la communauté de zooplancton (cycle proies – prédateurs). Cette succession saisonnière observée dans les deux barrages est classiquement décrite dans la littérature et est typique de plans d'eau profonds mésotrophes à eutrophes.

La localisation de la biomasse de phytoplancton dans la colonne d'eau est également indicatrice du fonctionnement des barrages. La localisation du maximum de biomasse dans l'épilimnion (Fig. 5C et 6C), et non sous la thermocline, s'explique par le statut mésotrophe à eutrophe des barrages et par leur temps de séjour relativement court, qui entraîne un renouvellement de la masse d'eau avec apports de nutriments de l'amont. La limitation par les nutriments N et P dans l'épilimnion n'est donc pas suffisante pour rendre le phytoplancton dépendant des flux verticaux de nutriments, issus de la minéralisation de la matière organique dans l'hypolimnion. Le phytoplancton est principalement localisé dans la couche de mélange, avec des concentrations similaires au cours de l'année dans les deux barrages (Fig. 7).



**Fig. 7 : série temporelle de (A) la biomasse de phytoplancton (concentration moyennée sur l'ensemble de la colonne d'eau) et de (B) la concentration en phosphates dans les 2 barrages. Les lignes rouges indiquent les pics de biomasse de phytoplancton, qui coïncident avec les chutes de phosphates.**

Lors du suivi, il a également été observé que la productivité primaire (photosynthèse) du phytoplancton est plus forte en surface qu'en profondeur, indiquant une limitation par la lumière. Les espèces dominantes du phytoplancton sont également caractéristiques de milieux turbides mélangés, avec par exemple des espèces comme *Limnothrix*, *Planktothrix* et *Pseudanabaena*. Ce suivi a donc permis de montrer que la biomasse de phytoplancton dans les barrages est contrôlée par la lumière disponible dans l'épilimnion, par la disponibilité en phosphates et enfin par la biomasse de zooplancton, principal consommateur du phytoplancton.

En juillet-août ont été observés des efflorescences de cyanobactéries, avec des intensités de blooms variables selon les années (Fig. 5E et 6E). L'année 2016 a été ainsi particulièrement marquée par un fort bloom aux barrages de *Planktothrix agardhii* (et *Aphanizomenon gracile* dans une moindre mesure). L'intensité du bloom aux barrages était moins forte en 2015, mais un fort bloom localisé de *Microcystis* a été observé juste à l'aval de la station République. Les barrages modifient les flux de matière dans le bassin versant : le barrage de Vezins piège par sédimentation les matières transportées de l'amont. Une chute de la turbidité a été observée dès la station de République, qui constituait lors de notre étude, la zone de transition entre le lotique et le lentique (Fig. 8). L'éclaircissement de la masse d'eau couplé à des apports de N et P du bassin versant est favorable au développement de phytoplancton, voire de cyanobactéries, si la température est favorable.

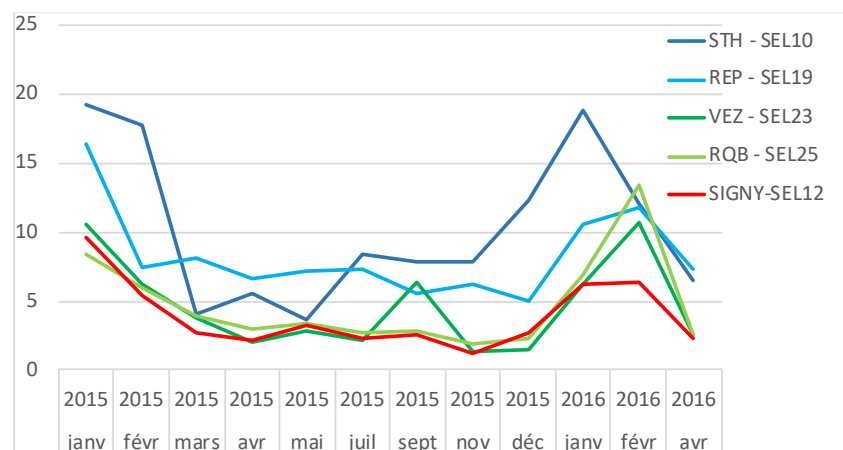


Fig. 8 : turbidité de l'eau mesurée par sonde en fonction du temps et des stations.

Le développement du phytoplancton dans les barrages contribue au piégeage de nutriments et autres molécules inorganiques dans le sédiment, dont les métaux lourds, qui vont alors sédimenter dans le barrage. Alors que l'effet sur l'abattement des nitrates est resté peu marqué, une réduction des concentrations en phosphore a été observée (Fig. 8), dès le premier barrage. Les concentrations peuvent alors devenir limitantes pour la croissance du phytoplancton à certains moments de l'année.



#### **4. Structure fonctionnelle avec les différents gpes, mai-juin et septembre-octobre. Phk – zpk – gpes phytopam**

Le fonctionnement des écosystèmes peut être mis en évidence par la structure fonctionnelle des organismes. Nous pouvons ainsi utiliser les guildes trophiques pour les macroinvertébrés d'eau douce (Tachet et al. 2010), les guildes écologiques pour les diatomées d'eau douce (Rimet et Bouchez 2012) et la morphologie pour le phytoplancton (Kruk et Segura 2012).

L'analyse comparée des profils fonctionnels de ces trois groupes (macroinvertébrés, phytoplancton et diatomées) entre 2015 et 2016 permet de mettre en lumière le fonctionnement global des écosystèmes de la Sélune sur les 5 stations du suivi sur le cours principal du cours d'eau au printemps (Fig 9) et à l'automne (Fig 10).

De façon générale, on note une assez forte fluctuation interannuelle des communautés de microalgues (diatomées et phytoplancton) entre 2015 et 2016, quelle que soit la saison, alors que les communautés de macroinvertébrés sont relativement stables entre les années. Ceci est en accord avec le cycle de vie plus court des communautés de microorganismes, qui sont ainsi très réactives vis-à-vis des conditions climatiques, avec un délai de réponse de quelques jours. De même, les structures fonctionnelles des communautés d'invertébrés sont très similaires entre le site en amont à St Hilaire du Harcouët (SEL10) et en aval au pont de Signy (SEL12) alors que les structures fonctionnelles pour les microorganismes sont très différentes entre les sites d'eau courante. En revanche, l'ensemble des communautés montrent une modification importante du fonctionnement des écosystèmes du pont de la république (SEL19) à la retenue de la Roche-qui-Boit (SEL25) ainsi qu'une forte différence des structures fonctionnelles entre les retenues de Vezins (SEL19) et de la Roche-qui-Boit (SEL25).

Au printemps 2015, les communautés phytoplanctoniques (groupe 1) et les diatomées benthiques (groupe low profile) étaient caractérisées par des espèces de petites tailles dans les sites en amont (SEL10 et SEL19) suivi par une augmentation de la proportion des espèces de grandes tailles dans les retenues (SEL25 et SEL23) et des évolutions différentes au pont de Signy (SEL12), en restant proche de la retenue de la Roche-qui-Boit pour le phytoplancton mais une structure très différente des autres sites pour les diatomées benthiques. Cela montre qu'à cette saison, les conditions hydrologiques prédominent sur la structuration fonctionnelle de ces communautés. Au printemps 2016, les communautés phytoplanctoniques évoluent dans le même sens qu'en 2015, mais la structure fonctionnelle des communautés de diatomées benthiques diffère fortement entre d'un côté le site en amont à St Hilaire du Harcouët (SEL10) et la retenue de Vezins (SEL23) et de l'autre la Roche-qui-Boit (SEL25) et le pont de Signy (SEL12). En ce qui concerne les macroinvertébrés, les structures fonctionnelles observées aux printemps 2015 et 2016 sont très proches avec une dominance des brouteurs de biofilms et des décomposeurs dans les sites d'eau courantes (SEL10, SEL12, SEL19) et une dominance des filtreurs dans les retenues (SEL25 et SEL23).

A l'automne, les structures fonctionnelles sont très différentes de celles du printemps, et cela pour tous les groupes. Pour les communautés phytoplanctoniques, les espèces flagellées et tailles moyennes (groupe 4, avec principalement des algues vertes) sont dominantes sur les sites en amont (SEL10 et SEL19) alors que les diatomées non fixées (groupe 6 pour le phytoplancton et le groupe « motile » pour les diatomées benthiques) dominent dans les

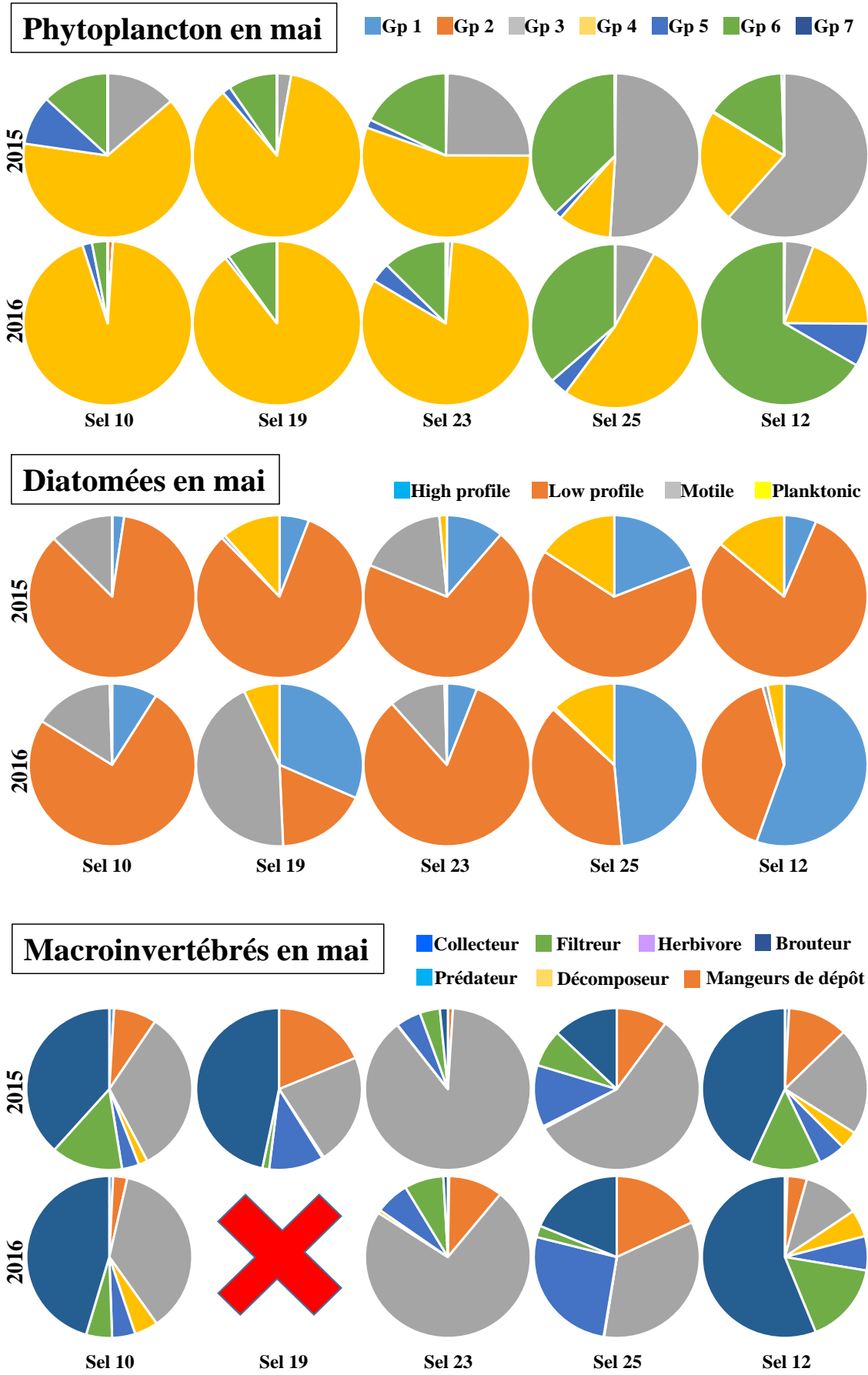
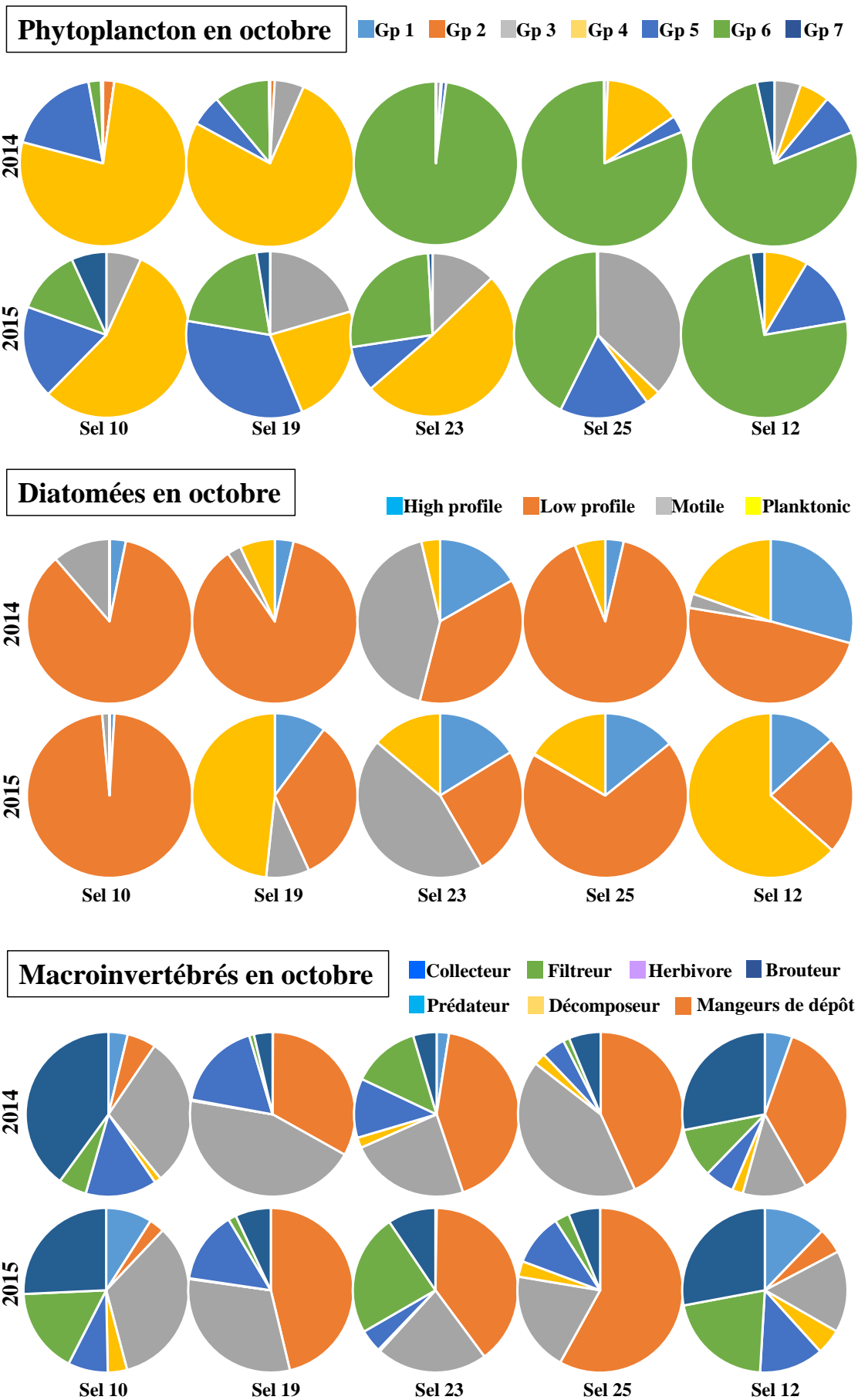


Fig 9. Proportion des groupes fonctionnels au printemps 2015 et 2016.



*Fig 10. Proportion des groupes fonctionnels à l'automne 2014 et 2015.*

tenues de Vezins (SEL23) et de la Roche-qui-Boit (SEL25) mais uniquement pour le phytoplancton sur la seconde retenue. Contrairement au printemps, les structures fonctionnelles des diatomées benthiques sur la Roche-qui-Boit se rapprochent plus des sites en amont. Comme au printemps, les communautés au pont de Signy (SEL12) sont proches de celles de la Roche-qui-Boit pour le phytoplancton mais très différentes pour les diatomées benthiques. En 2016, les communautés de diatomées benthiques sont très différentes entre les sites et aucun patron ne peut être observé entre les sites. Pour les communautés de macroinvertébrés, comme au printemps, les structures fonctionnelles observées aux automnes 2015 et 2016 sont très proches avec une dominance des brouteurs de biofilms et des filtreurs dans les sites d'eau courantes (SEL10, SEL12, SEL19) et une dominance des mangeurs de dépôts dans les retenues (SEL23 et SEL25).

Les changements de communautés observés pour les macroinvertébrés dans les retenues entre le printemps (dominance des filtreurs) et l'automne (dominance des mangeurs de sédiments) sont en accord avec la mortalité massive du phytoplancton en fin de saison qui a modifié les ressources disponibles de la colonne d'eau (phytoplancton vivant consommé par les filtreurs) à de la matière organique détritique benthique (consommée par les mangeurs de sédiments). Cela est confirmé également par la structure fonctionnelle du phytoplancton de taille moyenne regroupant majoritairement les algues vertes (groupe 4), qui se modifie au profit des diatomées phytoplanctoniques (groupe 6). La déstratification automnale de la masse d'eau, avec son régime turbulent, est en effet favorable aux diatomées.

## 5. Synthèse et préconisation

Les structures fonctionnelles des communautés sont très fortement modifiées par la présence des barrages avec une réponse différentielle entre les retenues de Vezins et celle de la Roche-qui-Boit. Toutefois, les réponses sont différentes entre les groupes taxonomiques et varient fortement entre les années suivies. Seuls les macroinvertébrés ont une réponse stable entre 2015 et 2016 alors que la réponse des communautés microbiennes (phytoplancton et diatomées) est très variable.

Avec l'arasement, l'abattement de phosphore et des matières en suspension associé aux barrages sera réduit, maintenant une eau riche en nutriments mais limitée en lumière sur tout le cours principal. En effet, avec l'arasement, il est attendu que le biofilm de rivière se redéveloppe dans les zones euphotiques du cours d'eau et favorise la fixation du phosphore libéré par l'arasement par les réseaux trophiques lotiques. La réduction en azote associée aux barrages était quant à elle plus faible et ne devrait pas être modifiée par l'arasement des barrages.

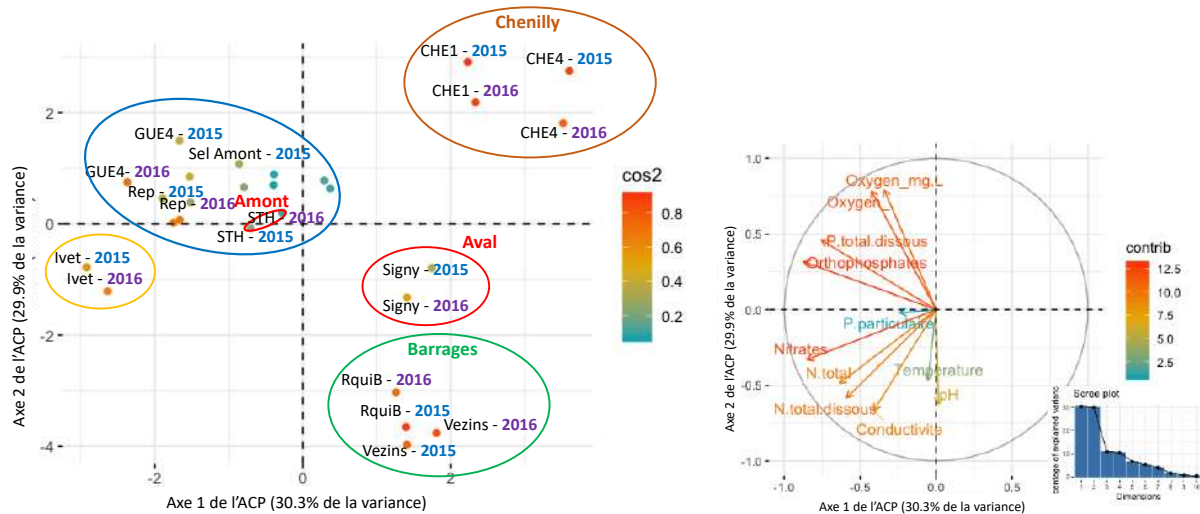
Les proliférations de cyanobactéries perturbent le fonctionnement des écosystèmes aquatiques et constituent un risque pour la santé, limitant alors l'usage du plan d'eau (eau potable, pêche, activités récréatives). L'arasement des barrages va entraîner l'évacuation des cyanobactéries de la masse d'eau et également une partie de celles présentes dans le sédiment (cellules de dormance). Avec les nouvelles conditions hydrologiques (très faible temps de résidence, forte turbidité et conditions turbulentes), le développement des cyanobactéries comme *Microcystis* est peu probable. Certaines espèces déjà présentes et caractéristiques de milieux turbides et turbulents, comme *Planktothrix agardhii*, pourraient par contre se maintenir, même si les conditions de turbulences et de température d'un système d'eau courante ne devraient pas permettre l'apparition de bloom.

Les affluents et le cours principal de la Selune ont été échantillonnés en début d'été 2015 et 2016. La physico-chimie de l'eau a été mesurée, en termes de température, d'oxygène dissous, de pH, de conductivité et de concentrations en nutriments (orthophosphates, nitrates, phosphore et azote totaux dissous et particulaires). Le biofilm (periphyton) et le phytoplancton ont été également caractérisés en termes de biomasses et d'activité photosynthétiques.

D'une année à l'autre, les eaux des affluents présentent des caractéristiques physico-chimiques similaires, comme indiqué par la proximité des points sur l'Analyse en composante principale suivante (Fig. 1). Cinq groupes se distinguent : les eaux des barrages de Vezins et Roche-qui-Boit ; la station de Signy ; les eaux de l'affluents de Chenilly ; les eaux de la station sur l'Ivet ; le reste des affluents avec les eaux de l'amont (Saint-Hilaire et pont de la République).

Les eaux de Chenilly présentent une conductivité et des concentrations en azote plus faibles que les autres eaux. Les eaux des barrages et de Signy présentent des concentrations en phosphores plus faibles que les eaux amont, en raison d'un piégeage du P dans les barrages, ainsi que des eaux moins oxygénées. L'affluent de l'Ivet a présenté lors des échantillonnages les plus fortes concentrations en azote, en particulier en nitrates. La température, le pH et le phosphore particulaire n'ont pas contribué à la distinction des masses d'eaux, probablement à cause de leur forte variabilité temporelle (une valeur ponctuelle n'est pas suffisante).

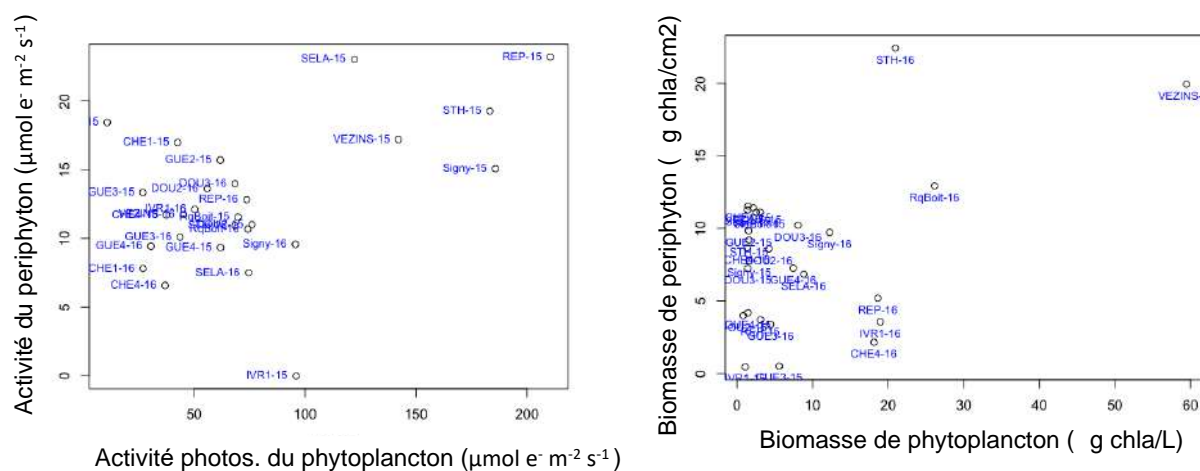
Tous ces paramètres physico-chimiques sont susceptibles d'influencer les producteurs primaires, comme le phytoplancton plutôt inféodé aux barrages, et le biofilm photosynthétique (ou périphyton) plutôt inféodé aux rivières.



**Fig. 1 : Analyse en composante principale (ACP) des caractéristiques physico-chimiques des eaux des affluents et du cours principal (mesurées en juin 2015 et 2016). STH (SEL10): Saint-Hilaire ; REP (SEL19): station au niveau du pont de la République ; VEZ (SEL23): barrage de Vezins ; RquiB (SEL25): barrage de Roche-qui-Boit ; Signy (SEL12) : station au pont de Signy**

Une relation positive est observée entre l'activité photosynthétique du phytoplancton et celle du biofilm (Fig. 2a). Ceci s'explique par le fait que la croissance du phytoplancton et celle du biofilm sont contrôlées par les mêmes facteurs, la lumière disponible *in situ* et les concentrations en nutriments dans l'eau. De plus, le temps de réponse de ces organismes est très rapide (de quelques minutes à une heure).

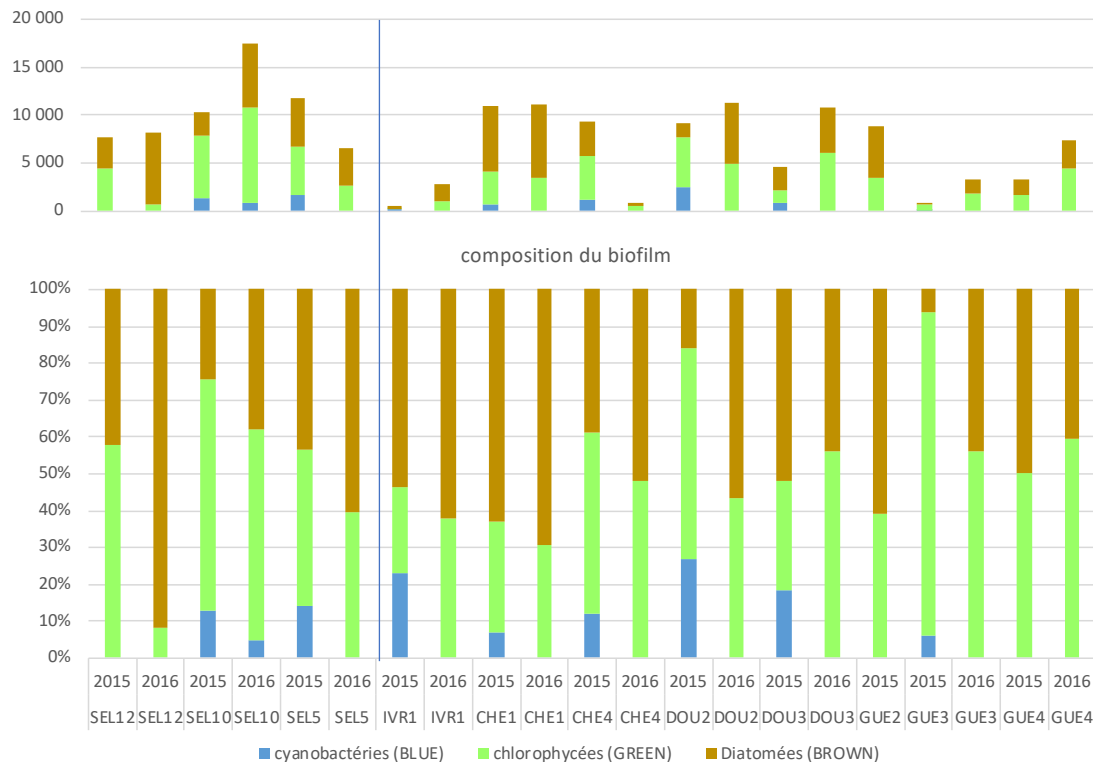
Les biomasses de phytoplancton et celles de périphyton ne sont quant à elles pas corrélées (Fig. 2b). D'une part, les biomasses de biofilm et de phytoplancton sont contrôlées par des facteurs biotiques et abiotiques différents : les crues réduisent la biomasse de biofilm, par cisaillement et arrachage, tandis que les débits moyens contrôlent le temps de résidence local de l'eau et donc le temps laissé au phytoplancton pour se développer. Le taux de dilution est généralement trop fort dans les affluents pour permettre au phytoplancton de se développer localement et nécessite la présence de petits plans d'eau ou de zones d'eau stagnantes connectées à la rivière. D'autre part, alors que le biofilm est contrôlé par des facteurs locaux, intrinsèques à la station, le phytoplancton est contrôlé par les conditions amont. Enfin, les consommateurs de biofilms et de phytoplancton ne sont pas les mêmes, avec les organismes de type râcleurs et les filtreurs respectivement, or la biomasse de ces organismes est variable d'une station à l'autre.



**Fig. 2 :** (a) activité photosynthétique du biofilm (periphyton) en fonction de l'activité du phytoplancton, pour les différentes stations échantillonnées en 2015 et 2016. (b) biomasse de biofilm en fonction de la biomasse du phytoplancton. L'activité photosynthétique a été mesurée sur le terrain au phytoPAM, méthode basée sur la fluorescence. STH (SEL10): Saint-Hilaire ; REP (SEL19): station au niveau du pont de la République ; VEZ (SEL23): barrage de Veziens ; RquiB (SEL25): barrage de Roche-qui-Boit ; Signy (SEL12) : station au pont de Signy

Les biomasses mesurées aux différentes stations, que ce soit pour le biofilm ou pour le phytoplancton, ne sont pas corrélées d'une année sur l'autre. En effet, ces biomasses sont dépendantes des conditions climatiques les jours précédents (ensoleillement, température et pluie). De manière générale, on observe des biomasses de biofilm comparables entre le cours principal de la Selune et ses affluents (Fig. 3a). Cependant, l'affluent de l'Ivet présente des biomasses très faibles de biofilm en 2015 et 2016 (Fig. 3a), probablement en lien avec le fort recouvrement par la ripisylve, qui fait de l'ombre à la rivière. Les affluents CHE4 et GUE3 ont également présenté des biomasses faibles certaines années. **La présence d'écume à la station CHE4 en 2016 est indicatrice de conditions turbulentes importantes à proximité (présence probable d'un seuil juste à l'amont de la station), qui ont impacté négativement le biofilm.**

L'activité photosynthétique et la composition du biofilm sont généralement plus indicatrices des conditions locales du cours d'eau que la biomasse elle-même. L'utilisation de sondes permettant d'augmenter l'effort d'échantillonnage et d'élargir ainsi l'échelle spatiale de mesure du micro-habitat au tronçon devrait permettre de mieux caractériser ce paramètre. La biomasse de périphyton n'est pour l'instant pas prise en compte dans les bases de données de suivis réglementaires DCE et est pourtant à la base du green web.



**Fig. 3 : composition du biofilm (periphyton) dans les stations lotiques avec les principaux groupes, les cyanobactéries synthétisant de la phycocyanine (BLUE), le groupe des algues vertes (GREEN) et le groupe des diatomées et chrysophycées (BROWN). La composition est mesurée par fluorescence des différents pigments photosynthétiques au phytoPAM. (a) biomasse cumulée (fluorescence) et (b) proportion relative. La partie de gauche correspond aux stations lotiques du cours principal, tandis que la partie droite correspond aux affluents.**

En termes de composition du biofilm, les diatomées dominent la biomasse avec quelques espèces de chlorophycées (Fig. 3 et 4). Un signal de fluorescence de cyanobactéries a été observé, principalement en 2015 (Fig.3), mais leur présence n'a pas été validée par les observations directes au microscope. Une analyse sous contrainte avec sélection des variables environnementales a été réalisée afin d'identifier les paramètres environnementaux influençant l'activité et la composition du biofilm (Fig. 5). La biomasse des chlorophycées (GREEN) dans le biofilm tend à augmenter avec la lumière mesurée *in situ* lors de l'échantillonnage (PAR), ce qui est en accord avec la littérature. Nous avons également observé une augmentation importante des chlorophycées dans les barrages, mais cette augmentation est à mettre relation avec le faible hydrodynamisme qui permet le développement de biofilm épais (données non montrées ici). La biomasse des diatomées tend à augmenter lorsqu'il y a des concentrations en nitrates plus faibles (Fig. 5). Bien que le biofilm absorbe une partie des nitrates de l'eau et contribue à l'abattement des nitrates, les biomasses restent a priori insuffisantes ici pour expliquer la relation. L'activité du biofilm photosynthétique corrèle quant à lui avec les saturations en oxygène, indiquant une contribution possible et partielle de ce biofilm à l'oxygénation de l'eau (Fig. 5).

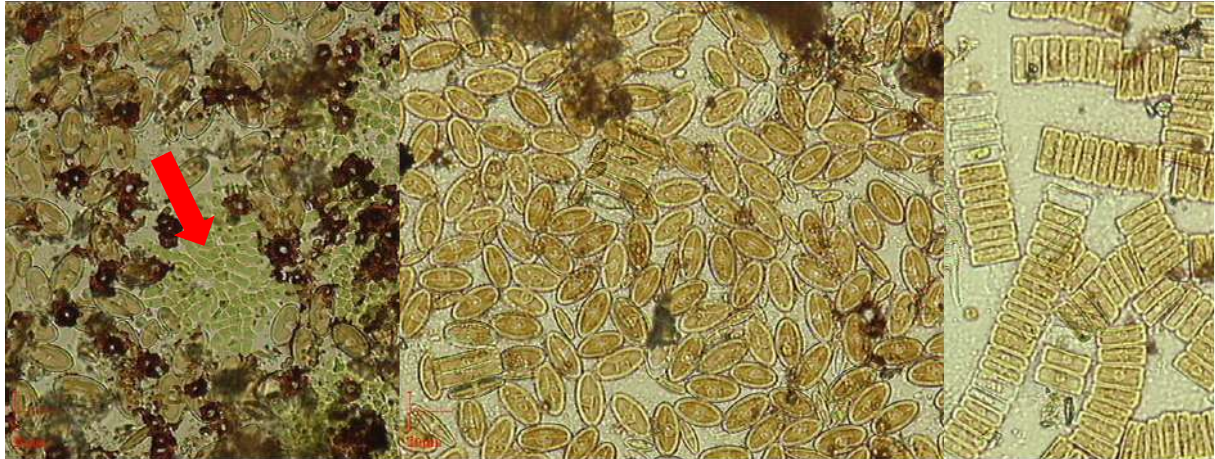


Fig. 4 : quelques photos du biofilm (periphyton) observé dans les affluents. La flèche rouge montre une algue verte, tandis que les autres sont différentes espèces de diatomées benthiques.

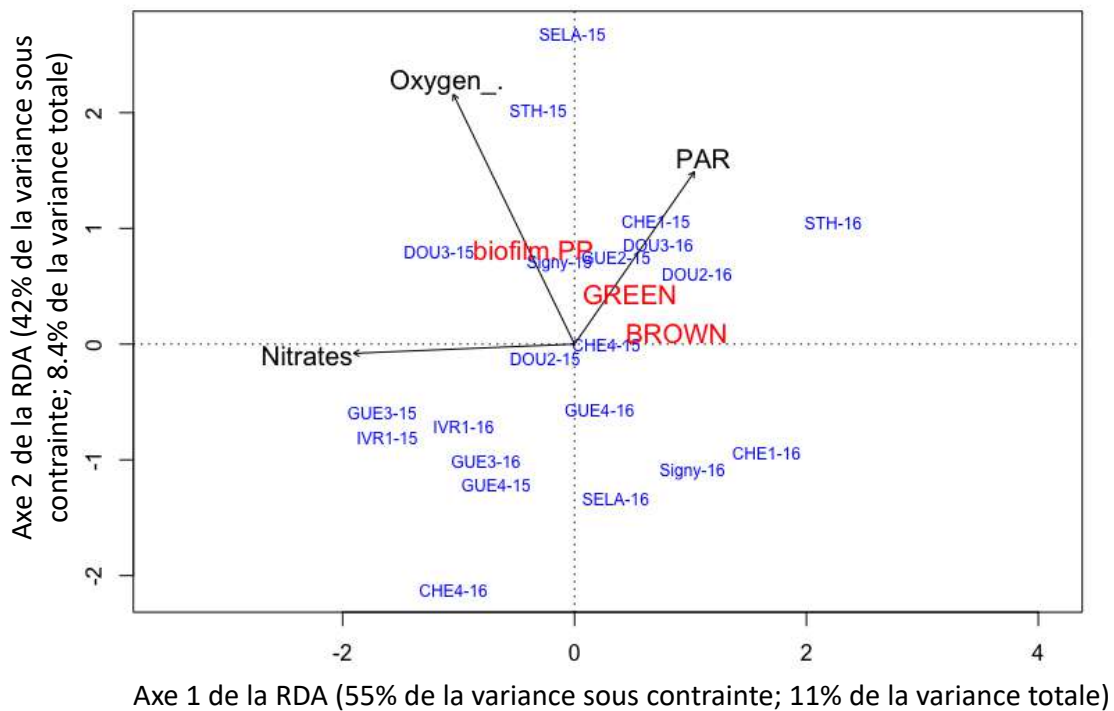


Fig. 5 : Analyse de redondance entre les paramètres physico-chimiques mesurés dans les affluents (Nitrates, lumière PAR et oxygène dissous mesuré en pourcentage de saturation) et les caractéristiques du biofilm (biomasse de chlorophycées -GREEN-, biomasse de diatomées -BROWN- et activité photosynthétique globale -biofilm PP-). Le test de permutation est significatif.

Le cours principal de la Selune a également été suivi tous les mois de 2015 à 2017 dans le cadre du projet Biomonitoring. Si les variations de biomasses décrites précédemment sont replacées dans le contexte saisonnier (Fig.6), on voit que le mois de juin correspond aux pics de biomasses de biofilm et de phytoplancton. La dynamique temporelle est surtout marquée pour le développement estival de biomasse de biofilm et de phytoplancton dans les barrages, qui suit le rayonnement global solaire. Les barrages sont propices aux fortes biomasses, à cause d'un temps de résidence suffisamment long pour le phytoplancton et d'un



hydrodynamisme faible pour le biofilm (limitant l'arrachage). Cependant, la contribution du biofilm à l'écosystème barrage reste négligeable aux vues de la faible surface littorale disponible pour son développement, les berges des deux barrages sont en effet très encaissées. La relation inverse entre activité et biomasse du phytoplancton dans les barrages s'explique par l'auto-ombrage et par la forte consommation des ressources nutritives, qui limitent alors l'activité. Dans les stations lotiques, les biomasses sont plus stables dans le temps, avec pour le phytoplancton, un minimum de biomasse en mars et une activité qui augmente progressivement de janvier à mai, surtout à l'aval des barrages. Pour le biofilm, la biomasse et l'activité restent faibles, sans tendance nette. Les valeurs d'activité photosynthétique sont généralement plus fortes à République, qui correspond à la zone de transition lotique – lentique : les ressources nutritives (les orthophosphates) sont fortes (pas encore consommées) et la lumière augmente suite à la sédimentation des matières en suspension, avant le développement et l'accumulation de biomasse dans les barrages.

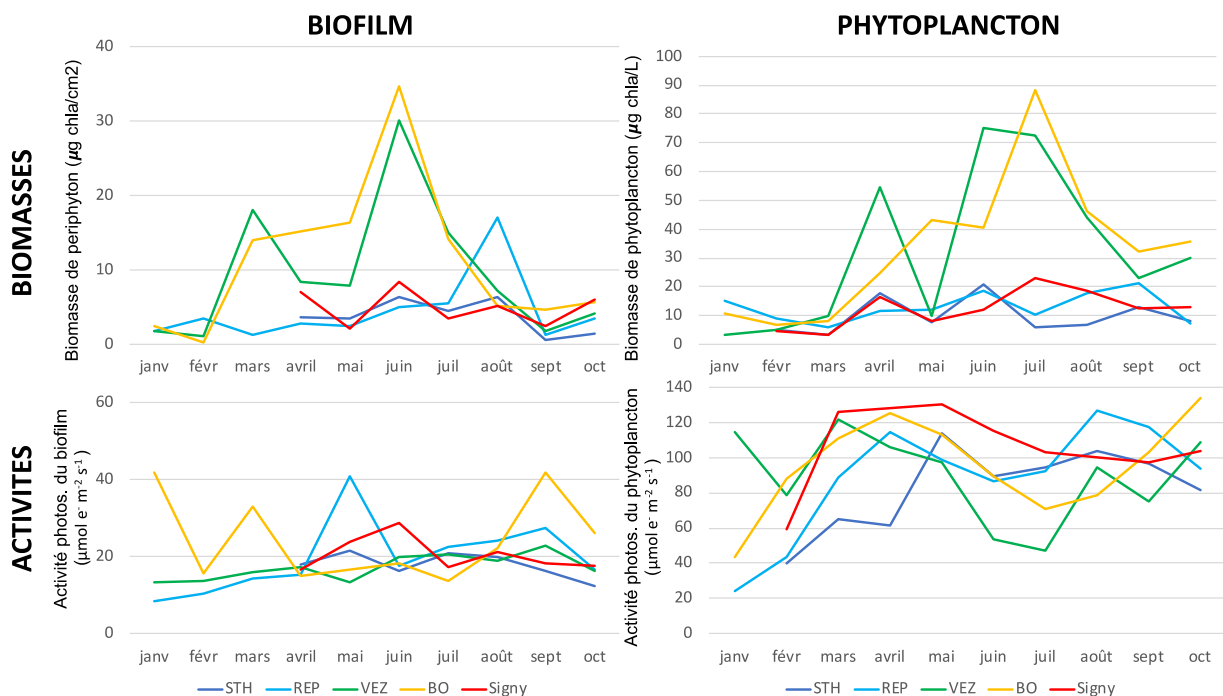


Fig. 6 : Biomasses et activité photosynthétique du biofilm (periphyton) et du phytoplancton sur le cours principal de la Sélune. STH (SEL10): Saint-Hilaire ; REP (SEL19): station au niveau du pont de la République ; VEZ (SEL23): barrage de Vezins ; BO (SEL25): barrage de Roche-qui-Boit ; Signy (SEL12) : station au pont de Signy.

## Détection de l'écrevisse du Pacifique *Pacifastacus leniusculus* par ADN environnemental : Application à l'étude de sa distribution sur le bassin versant de la Sélune

**Participants** : Jean-Marc Paillisson (CNRS, UMR ECOBIO), Marion Marlin (M1 PNB, Univ. Rennes 1), Nicolas Macel (M2 EEE, Univ. Lorraine), Maxime Poupelin (AI CDD Sélune), Anne-Laure Besnard (INRA, UMR ESE), Eric Petit (INRA, UMR ESE).

**Collaboration** : Frédéric Grandjean (Univ. Poitiers), Carine Delaunay (Univ. Poitiers).

### Contexte

Les écrevisses exotiques envahissantes ont des conséquences bien documentées sur les écosystèmes (Lodge et al. 2012 ; Capinha et al. 2013 ; Twardochleb et al. 2013), liées essentiellement à trois aspects de leur biologie : ce sont des espèces omnivores qui occupent une place centrale dans les réseaux trophiques, ce sont des espèces ingénieurs, et elles sont porteuses saines de l'aphanomyose, une maladie fongique causée par *Aphanomyces astaci* et qui est fatale pour les écrevisses européennes (Holdich et al. 2009). L'écrevisse signal est une des trois espèces d'écrevisses exotiques présentes sur le bassin versant de la Sélune, et celle pour laquelle la levée des barrages offre la plus grande opportunité d'expansion spatiale (Petit et al. 2017). Un des risques associés est de faire disparaître les populations de l'espèce autochtone, l'écrevisse à pattes blanches (*Austropotamobius pallipes*), encore présentes localement (Mieuzet 2016). Elle risque aussi de perturber la réinstallation d'espèces emblématiques comme le saumon, puisqu'elle est soupçonnée d'exercer une prédation sur les très jeunes stades de développement des salmonidés, notamment à proximité des frayères, et pourrait faciliter le retour de l'anguille pour laquelle elle est une ressource alimentaire potentielle.

L'écrevisse du Pacifique est aujourd'hui présente sur le bassin versant, notamment en amont de la retenue de Vezins, alors qu'elle semble absente ou rare dans les affluents qui se jettent directement dans les retenues ou en aval des barrages (Petit et al. 2017). Cette situation risque de changer rapidement. La baisse des niveaux va d'abord ouvrir à la colonisation par l'écrevisse du Pacifique un ensemble de treize affluents dont elle est aujourd'hui absente. L'arasement des barrages va ensuite lui permettre d'envahir toute la partie aval du bassin versant. Pour suivre cette expansion spatiale, nous avons décidé de mettre au point sa détection grâce à l'ADN environnemental. Les techniques développées dans le cadre de l'analyse de l'ADN environnemental offrent en effet aujourd'hui des possibilités de standardisation des moyens de détection des espèces vivantes dans le milieu aquatique (voir par exemple Strand et al. 2019 pour un exemple proche du contexte de la Sélune). Ces protocoles ont démontré leur efficacité pour détecter des vertébrés (poissons, amphibiens, Valentini et al. 2016) ou des invertébrés (mollusques, écrevisses, Mächler et al. 2016), mais demandent une mise au point propre à chaque contexte (Roussel et al. 2015).

### Objectifs

L'ADN présent dans l'environnement peut être détecté par diverses techniques dont les champs d'application dépendent des questions posées (Bohmann et al. 2014). La détection et le suivi d'espèces cibles est généralement réalisé par la mise en évidence de l'ADN par PCR quantitative, technique que nous avons adoptée. En absence d'étude publiée sur la détection de l'écrevisse du Pacifique par ADN environnemental au démarrage de ce projet, nous avons dans un premier temps mis au point un couple d'amorces et une sonde spécifiques à cette espèce. Afin de mieux comprendre la dynamique de la détection de cette espèce par ADN environnemental en milieu lotique, nous avons ensuite mis en œuvre un protocole d'échantillonnage destiné à permettre d'évaluer trois paramètres importants pour interpréter les résultats des analyses de laboratoires. Ces trois paramètres sont la probabilité de détection (quelle est la chance de détecter l'espèce quand elle est présente), l'effet de la dévalaison (quel est l'effet de la présence de l'espèce sur sa probabilité de détection vers l'aval), et l'influence des confluences (quelle est l'influence de l'ajout des débits de deux affluents sur la probabilité de

détection). Enfin, nous avons effectué un échantillonnage à l'échelle du bassin versant pour tester l'efficacité de la méthode et affiner notre connaissance de la distribution de l'espèce à cette échelle.

## Matériel et méthodes

### *Dessin d'un système amorces/sonde spécifique de l'écrevisse du Pacifique*

Pour mettre au point un système amorces/sonde spécifique à l'écrevisse du Pacifique, nous avons aligné les séquences du gène codant pour la première unité de la cytochrome oxydase (CO1) disponibles dans la base de données GenBank pour les écrevisses. Ce gène, le plus fréquemment utilisé pour produire des code-barres génétiques, est porté par le génome mitochondrial, ce qui facilite sa détection dans les sources environnementales d'ADN, du fait du grand nombre de copies de ce génome dans chaque cellule eukaryote. Nous avons pu aligner huit séquences d'écrevisse du Pacifique (références Genbank JF437995.1, JF437996.1, JF437997.1, JF437998.1, JF437999.1, JF438000.1, AY151519.1, EU921148.1), avec des séquences des espèces suivantes : *Procambarus clarkii*, *Procambarus fallax*, *Procambarus llamasii*, *Procambarus acutus*, *Procambarus toltecaae*, *Orconectes pagei*, *Orconectes packardi*, *Orconectes incomptus*, *Orconectes barri*, *Orconectes australis*, *Orconectes limosus*, *Austropotamobius italicus*, *Austropotamobius pallipes*, *Austropotamobius torrentium*, *Astacus astacus*, *Astacus leptodactylus*.

Les outils Primer3 et primer-blast ont été utilisés pour définir différents couples d'amorces et des sondes qui avaient pour caractéristiques d'être spécifiques de l'espèce cible. Le choix de la paire d'amorces et de la sonde ont ensuite été affinés à partir d'amplifications menées sur des ADNs génomiques de *P. leniusculus*, *P. clarkii*, *O. Limosus* et *A. leptodactylus* et qui ne sont pas détaillées ici.

### *Plan d'échantillonnage 2015 : comprendre la dynamique de la détection de l'écrevisse du Pacifique en milieu lotique*

La détection de molécules d'ADN à partir d'échantillons environnementaux n'étant pas parfaite, il est indispensable d'établir des plans d'échantillonnage qui permettent d'estimer cette détectabilité pour pouvoir traduire les résultats de la PCR quantitative en données de présence ou d'absence de l'espèce ciblée (Schmidt et al. 2013, Schmelzle & Kinzinger 2016). Le plan d'échantillonnage mis en place visait à pouvoir estimer cette probabilité de détection, ce qui nécessite d'avoir des répliques. Ainsi, pour chaque station échantillonnée, nous avons effectué un total de quatre prélèvements dans la colonne d'eau. L'espèce étudiée aussi bien que les milieux lotiques présentent un certain nombre de spécificités dont l'influence sur la détectabilité à partir de l'ADN environnemental est encore mal compris. Nous avons de ce fait couplé l'échantillonnage d'ADN environnemental au relevé de certaines caractéristiques propres à l'espèce échantillonnée et au milieu. En premier lieu, nous avons estimé la densité des écrevisses par un indice d'abondance, la CPUE (Catch Per Unit Effort), obtenu par le dénombrement des écrevisses à partir de la pause de 10 nasses pendant 24h au niveau de chaque station échantillonnée. Sur chaque station ont été aussi relevés les débits.

En 2015, les prélèvements d'eau et les captures ont été réalisés sur trois affluents de la Sélune : la Gueuche, la Mesnelle et le ruisseau de Chenilly. Ces ruisseaux ont été sélectionnés car la présence d'écrevisse Signal a été mise en évidence lors de précédents inventaires (Petit et al. 2017). Ces cours d'eau sont notamment caractérisés par des CPUE variables. Quatre sites ont ainsi été choisis : deux sur la Gueuche (GEU2 et GEU6), un sur Mesnelle (MES3) et un sur Chenilly (CHE4), avec respectivement 9 stations, 8 stations, 9 stations et 9 stations échantillonnées, chacune étant séparée de ses voisines d'environ 100 à 250m. Afin d'étudier les effets des confluences, une ou deux des stations échantillonnées se situaient sur au moins un affluent de chacun de ces sites (Figure X.1). Toutes ces stations ont été échantillonnées lors de trois occasions, en avril, en mai, et en juin.

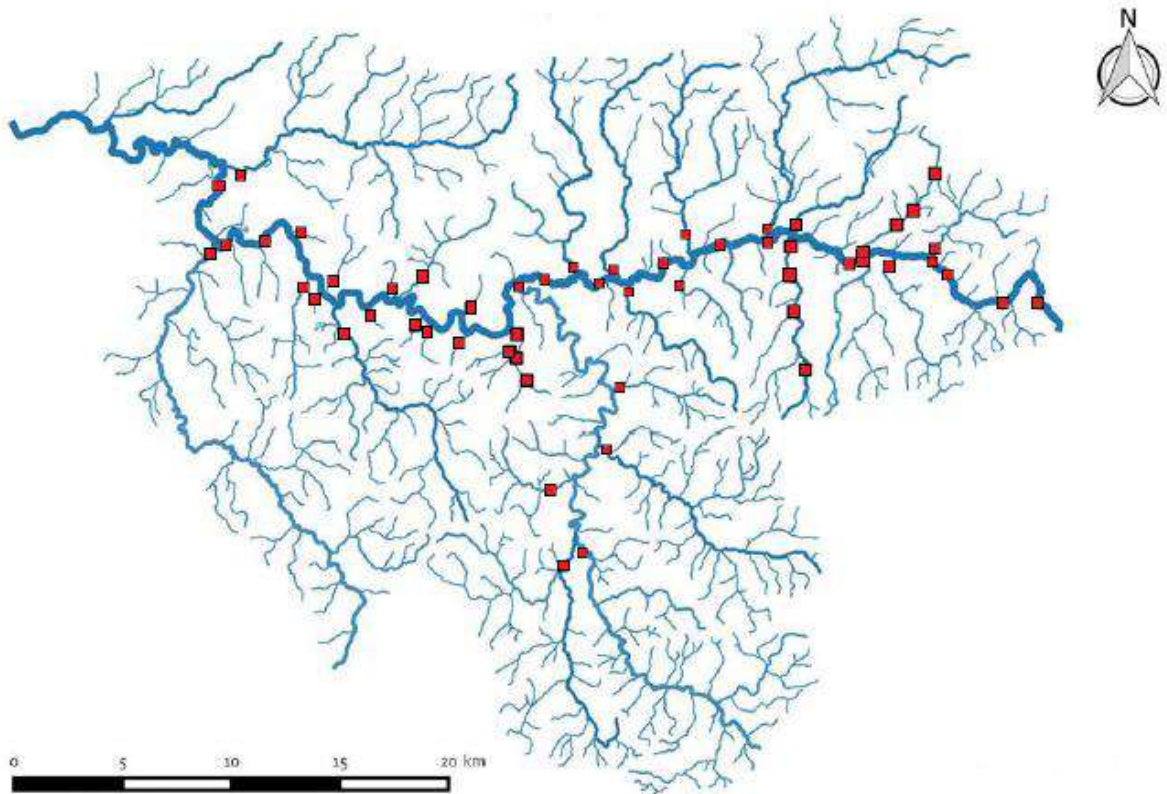


**Figure X.1** Détail de la position des stations échantillonnées sur GUE6 en 2015

*Plan d'échantillonnage 2016 : distribution spatiale de l'écrevisse du Pacifique sur la Sélune*

Des prélèvements d'eau ont été effectués d'aval en amont (afin d'éviter toute contamination sur les sites suivants), à la confluence de la plupart des affluents majeurs de la Sélune (25 stations) et dans le linéaire même du fleuve (16 stations). Cinq stations ont également été échantillonnées sur l'Airon, l'affluent le plus important de la Sélune (Fig. X.2).

Cette méthode d'échantillonnage a été répliquée à plus faible échelle sur trois affluents de la Sélune : Chenilly, où l'espèce est fortement présente ; Mesnelle, où l'espèce est présente en moindre densité ; Vau Roux, où l'espèce est absente. Le Vau Roux abrite par ailleurs l'espèce *Austropotamobius pallipes* (écrevisse à pattes blanches, classée Vulnérable sur la liste de l'UICN). Sur chacun de ces cours d'eau, quatre stations ont été échantillonnées. Pour chaque station, un ensemble de quatre prélèvements de 500ml ont été effectués.



**Figure X.2** Stations échantillonnées en 2016

## *Principes généraux de l'obtention des données moléculaires*

Afin d'éviter toute contamination, l'ensemble du matériel utilisé pour les prélèvements d'eau et pour leur filtration est passé aux UV pendant 15 minutes avant toute utilisation. De plus, afin de respecter le respect de la « marche en avant », les étapes de filtration, d'extraction d'ADN et de qPCR sont réalisées dans des laboratoires séparés.

### *Protocole de prélèvement*

Les prélèvements ont été réalisés dans la colonne d'eau, à faible profondeur et à proximité de la berge, à 5 mètres d'intervalle les uns des autres environ pour une même station. Le volume minimal prélevé était de 500 mL, dans des flacons étiquetés selon un code d'identification (cours d'eau\_station\_année\_Col-N° d'échantillon de filtration). Les prélèvements étaient ensuite stockés dans une glacière jusqu'au retour au laboratoire, où ils étaient placés à 6°C dans une chambre froide.

### *Filtration et extraction de l'ADN*

Les échantillons d'eau ont été filtrés le lendemain de leur prélèvement, au laboratoire, à l'aide d'une pompe à vide et de supports de filtration NALGENE, sur des membranes de cellulose de 47 mm de diamètre et de 0,45 µm de maille (SARTORIUS : 13006-47-N). Chaque filtre a ensuite été placé dans un tube Eppendorf de 2 mL contenant 1,5 mL de tampon d'extraction (CTAB 2%). Selon la turbidité de l'eau, il n'a pas été possible de filtrer 500ml pour chaque prélèvement. Le volume filtré a donc été noté pour pouvoir tester son influence sur la probabilité de détection.

Le protocole d'extraction mis en œuvre a été adapté de Vallet et al. (2007), le choix d'une extraction au CTAB étant justifié par la présence de débris et molécules végétales, potentiels inhibiteurs de PCR, dans l'eau des rivières. Chaque filtre a été extrait par moitiés, donnant ainsi deux répliques techniques pour chaque prélèvement d'eau. Lors de chaque journée de filtration, deux échantillons témoins ont été filtrés après les filtrations réalisées dans la journée, pour contrôler qu'il n'y a pas de contamination entre échantillons.

### *PCR quantitative*

Le mélange réactionnel de 25µl était composé d'eau, de Master Mix (Taqman environmental, ABI Applied Biosystems), de la sonde (concentration finale de 0,10µM), de l'amorce sens (amorce F, concentration finale de 0,40µM) et de l'amorce anti-sens (amorce R, concentration finale de 0,40µM), ainsi que de 3µl d'ADN. Les réactions ont été réalisées par lots de 96 échantillons répartis comme suit : un témoin positif, un témoin négatif, un témoin *P. clarkii*, 5 dilutions de la gamme étalon, et 24 ADNs issus des extractions d'ADN environnemental, chacun de ces échantillons étant tripliqué. La gamme étalon correspond à un ADN génomique extrait de muscle d'un individu d'écrevisse du Pacifique, dont la concentration en ADN a été estimée au Nanodrop, avant d'être dilué en série au dixième, pour obtenir des concentrations allant de  $\sim 1 \times 10^{-1} \text{ng}/\mu\text{l}$  à  $\sim 1 \times 10^{-7} \text{ng}/\mu\text{l}$ . Nous avons utilisé soit une gamme allant de  $\sim 1 \times 10^{-3} \text{ng}/\mu\text{l}$  à  $\sim 1 \times 10^{-7} \text{ng}/\mu\text{l}$ , soit une gamme allant de  $\sim 1 \times 10^{-1} \text{ng}/\mu\text{l}$  à  $\sim 1 \times 10^{-5} \text{ng}/\mu\text{l}$ , dans les différentes plaques de PCR réalisées. Le témoin positif est quant à lui le même ADN non dilué, présent sur chaque plaque réalisée, de concentration  $\sim 1 \times 10^0 \text{ng}/\mu\text{l}$ .

La plaque PCR était recouverte d'un film transparent adhésif, centrifugée une minute à 200G ou 300G, puis placée dans le thermocycleur (CFX96 Touch Real-Time PCR Détection System, Bio-Rad), en suivant le programme de températures suivant : une phase d'initiation de 10 min. à 95°C, puis 55 cycles composés chacun de deux phases, une phase de dénaturation de 30 sec. A 95°C, puis une phase qui combine hybridation et élongation de 1 minute à 59°C. Le logiciel CFX manager 3.0 est utilisé pour la visualisation des qPCR réalisées et pour l'obtention des mesures de fluorescence.

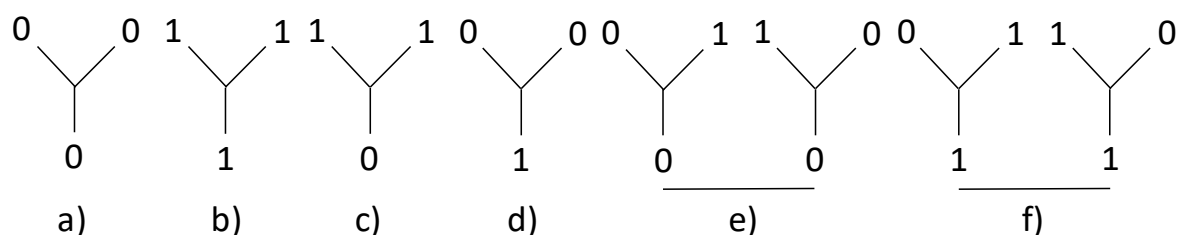
## Analyses statistiques

Les résultats des PCR quantitatives se traduisent par une métrique, Cq, qui représente le cycle PCR auquel l'ADN-cible est détecté. Nous avons transformé cette métrique en variable binaire pour indiquer pour chaque réplica si l'ADN de l'écrevisse du Pacifique avait été détecté ou non. Cette transformation s'est faite selon trois critères, un réplica PCR étant déclaré positif : (i) si sa valeur de Cq était inférieure à la valeur de Cq pour le réplica du témoin négatif (H2O) avec la valeur de Cq la plus faible ; (ii) si sa valeur de Cq était inférieure à la valeur de Cq pour le réplica du témoin *P. clarkii* avec la valeur de Cq la plus faible ; (iii) si sa valeur de Cq était inférieure à 42 (Agersnap et al. 2017).

Une particularité des données générées par l'analyse de l'ADN environnemental dans le cadre de plans d'échantillonnages visant à estimer la probabilité de détection est d'emboîter différents niveaux de réplifications : dans notre cas par exemple, nous avons en 2015 échantillonné 35 stations sur le bassin versant de la Sélune, chaque station était représentée par quatre prélèvements, et chaque prélèvement a conduit à une extraction d'ADN qui a ensuite été amplifiée trois fois. Ce type de données est idéalement analysé dans le cadre de modèles d'occupation multi-échelles qui permettent à la fois d'estimer la probabilité d'occupation des stations échantillonnées et l'incertitude de détection associée à chaque niveau d'échantillonnage (Nichols et al. 2008). Dorazio & Erickson (2018) ont implémenté ces modèles dans le package R *ednaoccupancy*, que nous avons utilisé pour analyser les données générées dans le cadre de ce projet.

Le cadre inférentiel utilisé, bayésien dans le cas d'*ednaoccupancy*, permet d'estimer l'influence de covariables sur les probabilités d'occupation ou de détection. Pour la probabilité d'occurrence, nous avons considéré deux covariables, le débit d'une part, et la détection de l'espèce à la station située immédiatement en amont d'autre part. Pour la probabilité de détection dans un prélèvement, nous avons considéré quatre covariables, à savoir le débit, la détection de l'espèce à la station située immédiatement en amont, la CPUE, et le volume d'eau filtré. Pour la probabilité de détection dans un réplica de PCR, nous avons considéré deux covariables, à savoir la CPUE et la volume d'eau filtré. Les modèles correspondant à toutes les combinaisons de variables ont été construits et comparés sur la base du critère d'information de Watanabe-Akaike (Watanabe 2010), pour obtenir les estimations de probabilités d'occurrence et de détection, ainsi que de l'effet des covariables sur ces probabilités.

Pour comprendre l'effet des confluences sur la détection de l'écrevisse signal, nous avons classé les différents cas observés en 6 catégories décrites dans la Fig. X.3 Le cas a) présente une absence de détection à chacune des trois stations considérées. Le cas b) présente une détection de l'ADNe à chacune des trois stations considérées. Les cas c) témoigne d'une absence de détection de l'ADNe de l'espèce cible à la station située en aval, sans montrer une quelconque influence des stations en amont. Le cas d) met en évidence le fait que la détection d'ADNe sur une station en aval ne dépend pas des éventuelles détections d'ADNe en amont. Le cas e) présente une détection de l'ADNe dans l'une des stations amont, mais pas dans la station aval ; cela peut illustrer une dilution de l'ADNe résultant d'une augmentation du débit à la confluence des deux cours d'eau. Le cas f) montre que l'ADNe détecté à la station en aval de la confluence peut être lié à celui détecté dans l'une des stations en amont, et peut donc provenir d'une population établie dans l'affluent considérée.



**Figure X.3** Schéma des différentes combinaisons de détection de l'ADN environnemental aux confluences. Le courant s'écoule du haut vers le bas de la figure. 0 : pas de détection de l'écrevisse du Pacifique ; 1 : détection de l'écrevisse du Pacifique.

## Résultats et discussion

### *Dessin d'un système amorces/sonde spécifique de l'écrevisse du Pacifique*

Plusieurs paires d'amorces et plusieurs sondes ont été testées pour aboutir à la mise au point d'un système qui soit le plus spécifique possible à l'écrevisse du Pacifique. Les PCR quantitatives réalisées pour cette mise au point ont montré que le système le plus efficace pour détecter *P. leniusculus* montrait une légère relation croisée avec *P. clarkii*, raison pour laquelle nous avons inclus de l'ADN de cette espèce dans toutes les plaques de PCR réalisées. La paire d'amorces et la sonde finalement retenus pour effectuer les PCR quantitatives (Tableau X.1) sur les échantillons d'ADN environnemental ciblent un fragment de 77 paires de base.

Amorce sens	3' TGCTATTGGAGTACTAGGGTTTG 5'
Amorce anti-sens	3' AAGCGCAGTATCAACATCT 5'
Sonde	3' TGTGTGAGCTCACCATATATTTACGGT 5'

**Tableau X.1** Séquences nucléotidiques des amorces et de la sonde utilisés pour détecter l'écrevisse signal par PCR quantitative

Alors qu'il n'existait pas d'études sur le sujet au démarrage du projet, elles font florès depuis (Agersnap et al. 2017, Larson et al. 2017, Harper et al. 2018, Mauvisseau et al. 2018, Robinson et al. 2018, Strand et al. 2019). Les systèmes de sonde et d'amorces dessinés par ces différents auteurs ciblent tous le même fragment, à l'exception de Mauvisseau et al. (2018), dont la cible est située sur le même gène (CO1) mais environ 250 paires de bases en amont du fragment utilisé dans les autres études.

### *Comprendre la dynamique de la détection de l'écrevisse du Pacifique en milieu lotique*

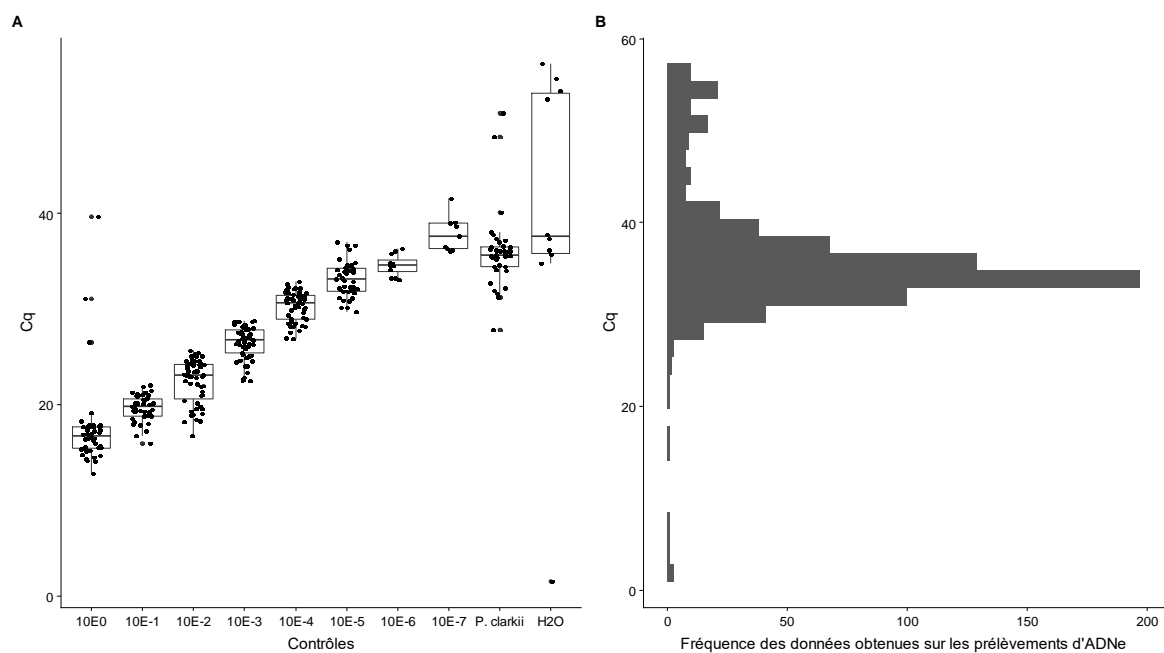
La campagne d'échantillonnage de 2015 concernait 35 stations de 4 sites. Chaque station a été échantillonnée en avril, mai, et juin, sur la base de quatre prélèvements dans la colonne d'eau à chaque occasion, ce qui représente un total de (35 x 3 x 4 =) 420 prélèvements. Un seul des deux réplicas techniques (deux extractions d'ADN par prélèvement, cf. ci-dessus) a été utilisé dans les analyses suivantes.

Les gammes étalons réalisées à partir d'ADN génomique d'Ecrevisse du Pacifique nous ont permis de confirmer la sensibilité du protocole mis en place à la quantité d'ADN présent dans l'échantillon : la valeur de Cq (qui mesure le cycle de PCR à partir duquel l'ADN est détecté) augmente quand la concentration en ADN diminue (Fig. X.4A). Les contrôles mis en place montrent que des contaminations au laboratoire peuvent survenir, puisque quelques valeurs des témoins H2O sont dans la gamme des valeurs de Cq obtenues pour des faibles concentrations d'ADN d'écrevisse. Ces contaminations ont été détectées sur deux des 18 plaques de PCR quantitatives réalisées sur les échantillons de 2015. Ces données montrent aussi que l'ADN de *P. clarkii* peut effectivement être détecté avec ce protocole, mais de façon bien moins efficace puisque l'ADN génomique non dilué de cette espèce montre des valeurs de Cq équivalentes à une très forte dilution de l'ADN génomique de *P. leniusculus*.

Les données obtenues sur les prélèvements d'ADN environnemental (Fig. X.4B) ont un mode qui correspond à une dilution à  $\sim 1 \times 10^{-5}$  ng/ $\mu$ l d'ADN génomique. Ce résultat est cohérent avec le fait de travailler avec de l'ADN qui existe sous forme de traces dans les prélèvements environnementaux. Ces données ont été transformées en variable binaire indicatrice de la détection de l'écrevisse du Pacifique (cf. ci-dessus). Les données issues des plaques ayant montré des signes de contamination n'ont pas été prises en compte dans les analyses.

La combinaison de covariables conduit à l'évaluation de 256 modèles différents. Nous avons évalué ces modèles pour chacun des trois critères de détection envisagés : la comparaison au témoin négatif de PCR, la comparaison au témoin *P. clarkii*, et les valeurs de Cq inférieures à 42. Quel que soit ce critère de détection, les meilleurs modèles (sur la base du critère d'information de Watanabe-Akaike)

considèrent que (i) la probabilité d'occupation d'une station est liée au débit et à la détection à la station située juste en amont, (ii) la probabilité de détecter l'écrevisse du Pacifique dans un prélèvement est lié à la détection de l'écrevisse à la station située en amont et enfin (iii) que la probabilité de détection dans un réplica de PCR est liée au volume d'eau filtré et à la CPUE. Nous avons utilisé le critère de détection le plus stringent (la comparaison au témoin *P. clarkii*) pour estimer les effets des covariables sur les probabilités de détection (Fig. X.5, X.6 et X.7). Il est important de noter ici que les estimations associées à ces covariables sont modifiées quand on change de critère de détection : dans ces modèles, les effets illustrés dans le cadre du critère de détection le plus stringent disparaissent. Ces résultats font donc apparaître une sensibilité au critère de détection utilisé. Le fait que l'inclusion de détections pour des valeurs de Cq plus élevées fasse disparaître l'effet des covariables pose la question de la limite de détection. En ce qui concerne la détection de l'écrevisse du Pacifique, Agersnap et al. (2017) et Strand et al. (2019) se réfèrent par exemple aux travaux réalisés sur la peste des écrevisses (*Aphanomyces astaci*) pour fixer un seuil de Cq à 41 (Vrålstad et al. 2009), arguant que des valeurs supérieures sont potentiellement des faux positifs. Les gammes de dilution utilisées dans notre étude ne permettent pas de déterminer avec certitude la limite de détection étant donné que les dilutions à  $\sim 10^{-7} \text{ng}/\mu\text{l}$  permettent de détecter l'ADN d'écrevisse à des valeurs de Cq comprises entre 36 et 41. En attendant d'affiner la définition de la limite de détection, nous avons conservé comme critère de détection la comparaison au témoin *P. clarkii* dans la suite des analyses.

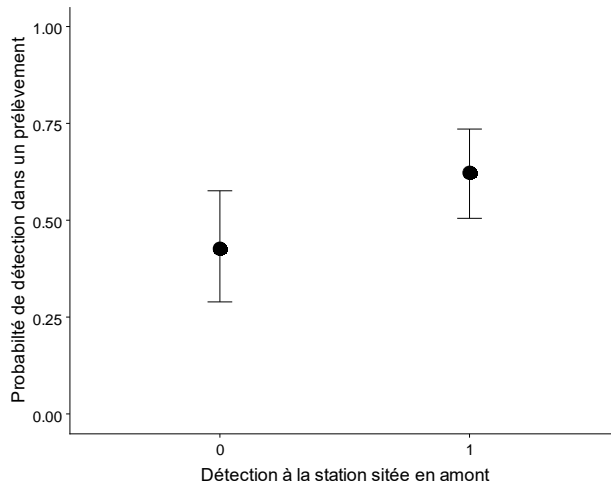


**Figure X.4** Résultat des PCR quantitatives sur les échantillons de 2015. Cq indique quel est le cycle de la PCR à partir duquel l'ADN recherché est détecté. A. Mesure de Cq pour les différents contrôles effectués, à savoir la gamme étalon, l'échantillon de *P. clarkii* et les témoins négatifs (H2O). B. Histogramme des valeurs de Cq obtenues pour l'ensemble des échantillons d'ADN environnemental prélevés en 2015.

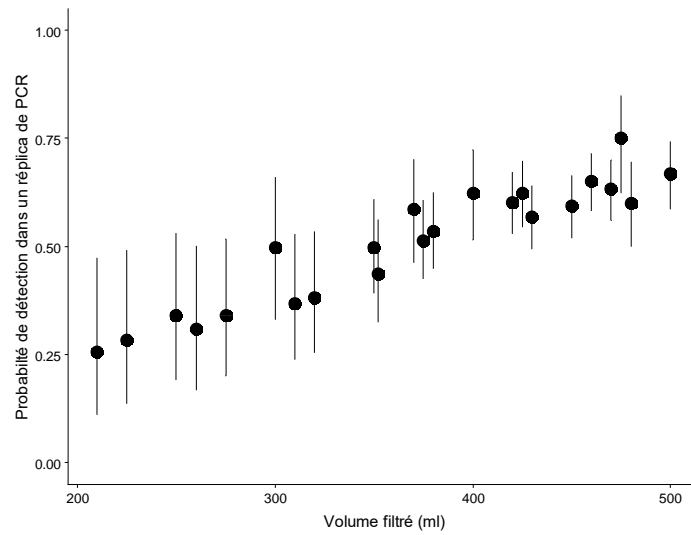
L'effet de la CPUE n'est pas significatif dans le modèle (l'estimation de l'intervalle de confiance à 95% est [-0,016 ; 0,326]), mais sa représentation permet de comprendre que cette absence d'effet est sans doute ici liée à une variable non identifiée qui cause une baisse de la probabilité de détection pour certaines CPUEs.

Les probabilités de détection varient, comme on peut le lire sur les figures présentées, entre 0,25 et 0,75 selon le niveau (prélèvement ou réplica de PCR) et la covariable considérée. Dans une station non influencée par la présence d'écrevisses en amont, cette probabilité de détection est de 0,43 dans un prélèvement. La probabilité d'avoir une PCR positive, pour un volume filtré de 500ml, est lui de 0,67.

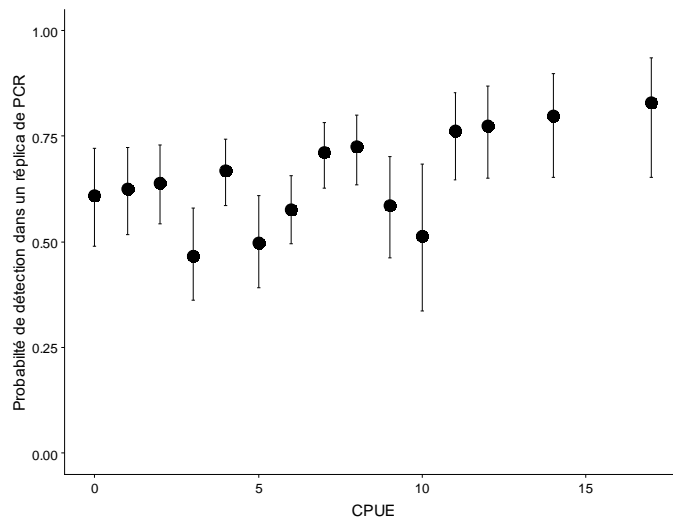




**Figure X.5** Relation entre la probabilité que l'écrevisse du Pacifique soit détectée dans un prélèvement d'eau et la détection à la station située en amont.



**Figure X.6** Relation entre la probabilité que l'écrevisse du Pacifique soit détectée dans un réplica de PCR et le volume d'eau filtré.



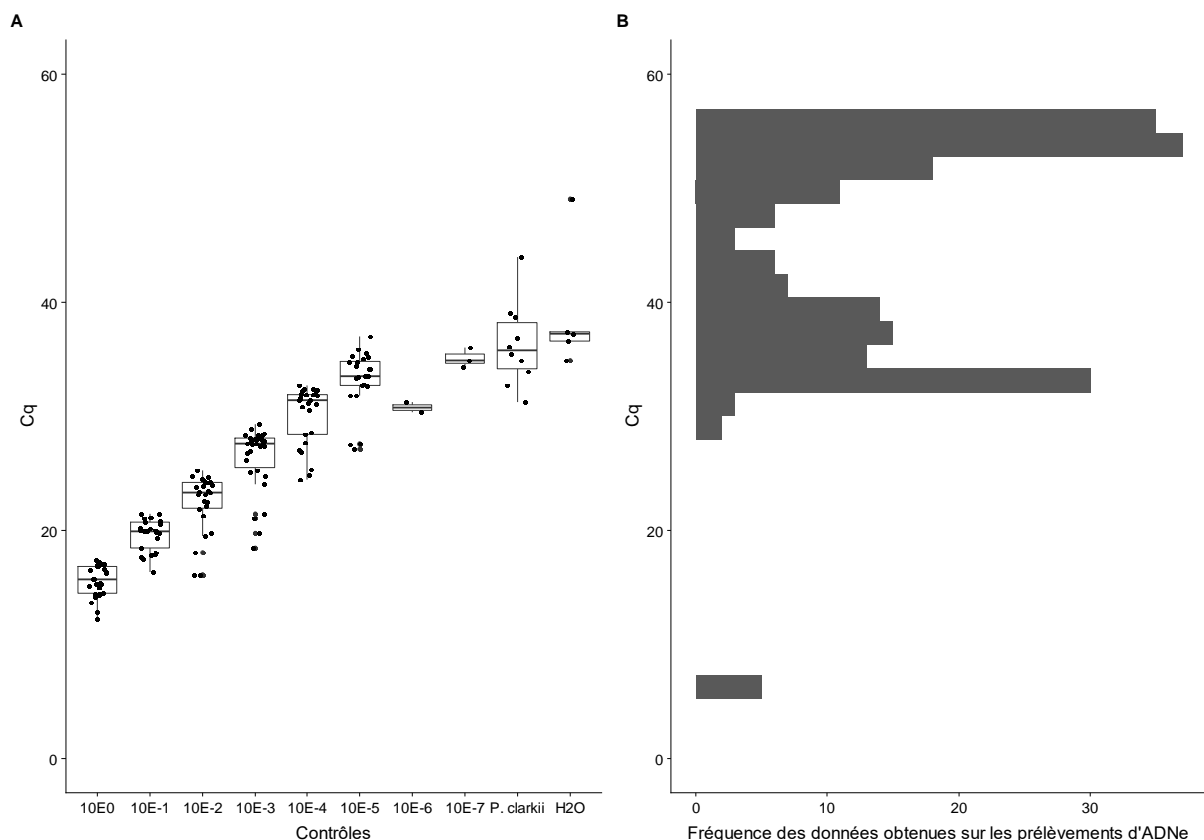
**Figure X.7** Relation entre la probabilité que l'écrevisse du Pacifique soit détectée dans un réplica de PCR et la CPUE.

Un ensemble de 5 confluences ont été échantillonnées en avril, mai et juin 2015, portant à 15 le nombre de confluences observées. Sur ces 15 observations, six sont des types a) et b), quatre sont de types c) et d), et cinq sont de types e) et f) (Fig. X.3). Ces résultats ne permettent pas de conclure sur un effet systématique des confluences. A noter toutefois que pour les cas e) et f), qui sont les cas compatibles avec l'effet prépondérant d'un des deux affluents, c'est toujours l'affluent au plus fort débit qui montre un résultat de détection identique à ce qui est observé en aval de la confluence, un résultat qui est cohérent avec l'effet de la détection en amont mis en évidence avec la modélisation statistique des données (Fig. X.5).

#### Distribution spatiale de l'écrevisse du Pacifique sur la Sélune

Bien que la gamme étalon présente une variance plus importante, les échantillons contrôles confirment les données obtenues en 2015 (Fig. X.8). La médiane des détections pour la gamme étalon présente une relation linéaire avec la concentration jusque pour une dilution à  $10^{-5}$  de l'ADN génomique de *P. leniusculus*, les dilutions suivantes étant mal ou pas détectées. Les valeurs de Cq obtenues pour l'échantillon *P. clarkii* sont dans la gamme de ce qu'on obtient pour ces dilutions très importantes de l'ADN génomique de l'espèce recherchée, et les témoins négatifs ne donnent pas de détection sauf dans de rares cas.

La distribution des valeurs de Cq obtenues pour les échantillons d'ADN environnemental de la Sélune présente une distribution bimodale, correspondant à la détection (valeurs de Cq les plus faibles) et la non-détection (valeurs de Cq les plus élevées) de l'écrevisse du Pacifique.



**Figure X.8** Résultat des PCR quantitatives sur les échantillons de 2015. Cq indique quel est le cycle de la PCR à partir duquel l'ADN recherché est détecté. A. Mesure de Cq pour les différents contrôles effectués, à savoir la gamme étalon, l'échantillon de *P. clarkii* et les témoins négatifs (H2O). B. Histogramme des valeurs de Cq obtenues pour l'ensemble des échantillons d'ADN environnemental prélevés en 2016.

L'analyse des données récoltées en 2016 avec le package ednaoccupancy a permis de réévaluer l'effet du volume d'eau filtré sur la probabilité qu'une PCR détecte l'écrevisse du Pacifique. Cet effet n'est pas significatif en 2016, ce qui peut être relié au fait que les volumes filtrés ne s'étendaient que sur une gamme allant de 300 à 500 ml. La probabilité de détection ne change pas par rapport aux données de 2015 (0,41), en revanche les PCRs sont moins efficaces, puisque la probabilité d'avoir une PCR positive est tombée à 0,38.

A. Amont			
Station	Captures	ADNe <i>P. clarkii</i>	ADNe <i>A. astaci</i>
Bah1			
BGar1			
Gla10			
Mes4			
Air4			
Arg1			
Che1			
Che2			
Che4			
Che5			
Dou1			
Mes1			
Mes2			
Mes3			
MRic1			
Sel01			
Sel02			
Sel03			
Sel04			
Sel05			
Sel06			
Sel07			
Sel08			
Sel09			
Sel10			
Air10			
Ale1			
Can10			
Fra1			
Geu1			
MPon1			
MPré1			
Rou1			
SJe1			

B. Retenues			
Station	Captures	ADNe <i>P. clarkii</i>	ADNe <i>A. astaci</i>
FGon1			
FHua1			
FNeu1			
Iso1			
Ivr1			
Vau1			
Vau2.1			
Vau3			
Vau4			
Yvr1			
Lai1			
Fam1			
FEsn1			
FGér1			
FMRé1			
FVil1			
Sel19			
Sel23			
Sel25			

C. Aval			
Station	Captures	ADNe <i>P. clarkii</i>	ADNe <i>A. astaci</i>
Oir0			
Sel11			
Sel12			
Sel13			
Beu10			

**Tableau X.2** Comparaison des résultats de détection de l'écrevisse du Pacifique par capture et par ADNe et bilan des détections de la peste des écrevisses par ADNe. Les stations échantillonnées ont été rangées par grands secteurs : A. Station situées en amont de la retenue de Vezins ; B : stations situées au niveau des retenues de Vezins ou de la Roche-qui-Boit ; C : stations situées en aval du barrage de la Roche-qui-Boit. Noir : détection ; blanc : pas de détection ; gris : pas de données de captures.

Pour analyser la distribution spatiale de la détection de l'écrevisse du Pacifique par ADN environnemental, nous avons considéré qu'il suffisait d'un réplica de PCR positif sur une station

donnée pour considérer que l'espèce était détectée. Nous avons comparé ces données aux captures par nasses et à la détection de la peste des écrevisses sur les mêmes échantillons d'ADN environnemental (réalisée par C. Delaunay et F. Grandjean à l'université de Poitiers dans le cadre d'une collaboration). Pour faciliter la lecture des résultats, les stations ont été rangées par secteurs géographiques relativement à leur position par rapport aux retenues (Tableau X.2).

Les captures par nasse tout comme la détection par ADNe sont sujettes à faux-négatifs, et la détection par ADNe est par ailleurs aussi susceptible de présenter des faux positifs (Lahoz-Montfort et al. 2016). Ces mécanismes expliquent, qu'à l'échelle des stations, la détection de l'écrevisse du Pacifique par ADNe n'est pas toujours cohérente avec les données de capture (Tableau X). Par exemple, la détection de l'écrevisse par ADNe aux stations Bah1, BGar1, Vau1 et SEL12 (Tableau X.2) reposent toutes sur un seul réplica de PCR qui présente par ailleurs une valeur de Cq très élevée (53-56) : ces détections sont très vraisemblablement des faux positifs.

De manière globale, l'écrevisse a été détectée par analyse de l'ADNe dans 68% des stations où l'écrevisse a été piégée. La situation inverse (détection par ADNe sur des stations où l'espèce n'a pas été piégée) concerne 40% des cas. Cette situation ressemble à ce qui a déjà été décrit pour les écrevisses en milieu lentique (Tréguier et al. 2014). Si ces problèmes de détectabilité rendent difficiles l'analyse des résultats station par station, leur analyse par secteur confirme ce qui a été démontré grâce aux piégeages conduits ces dernières années, à savoir que l'écrevisse du Pacifique est principalement trouvée en amont de la retenue du barrage de Vezins (Tableau X.2A), où sa présence diminue quand on remonte vers certaines têtes du bassin versant (stations Mes4, Mpré1, Gla10 par exemple). Elle est par contre absente de l'aval (Tableau X.2C), et sa présence est à confirmer sur certains affluents des retenues (Tableau X.2B). De ce point de vue, la détection de l'aphanomyose, qui semble plus sensible que celle de l'écrevisse (la peste est retrouvée dans 86% des stations où l'écrevisse a été capturée, et est donc bien présente sur le bassin versant), pourrait être informative (Robinson et al. 2018, Wittwer et al. 2017, 2018). Mais le fait que l'écrevisse comme son parasite ne soient détectés que par des analyses moléculaires dans la zone des retenues pose la question de faux-positifs de source biologique (Roussel et al. 2015) liés par exemple au transport direct ou par les fèces d'ADN de ces espèces par les prédateurs de l'écrevisse exotique (héron, loutre, anguille, pour citer des espèces présentes sur le bassin versant).

## Conclusions

La détection de la présence des écrevisses par ADNe présente une facilité de déploiement à des échelles temporelle et spatiale qui restent extrêmement difficiles à mettre en œuvre par des approches plus classiques de piégeage. La présence de faux-positifs et de faux-négatifs impose cependant la mise en œuvre de plans d'échantillonnages rigoureux et rend difficile l'interprétation des résultats obtenus à une date donnée sur une station donnée autrement qu'en termes probabilistes. Dans cette étude pilote menée sur la Sélune, nous avons mis en évidence des effets de la détection à la station située en amont, de la CPUE et du volume filtré sur la détectabilité de l'écrevisse. Hormis pour le volume filtré, qui est un proxy de la turbidité de l'eau, les effets détectés sont quantitativement modérés et restent à confirmer (lien avec le seuil de détection, reproductibilité inter-annuelle, variables cachées, cf. ci-dessus). La collaboration avec des collègues de Poitiers nous a permis (1) de mettre en évidence la forte prévalence de la peste de l'écrevisse sur le bassin versant, et (2) la possibilité d'utiliser la détection du parasite comme indice de présence de l'écrevisse exotique. Il resterait ici à préciser le rôle des prédateurs pour expliquer la détection de l'écrevisse comme de son parasite dans des sites où l'écrevisse n'est pas connue, comme possible source de faux positifs de source biologique et non expérimentale (Roussel et al. 2015).

## Bibliographie

- Agersnap, S., Larsen, W.B., Knudsen, S.W., Strand, D., Thomsen, P.F., Hesselsøe, M., Mortensen, P.B., Vrålstad, T., Møller, P.R., 2017. Monitoring of noble, signal and narrow-clawed crayfish using environmental DNA from freshwater samples. *PLOS ONE* 12, e0179261. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179261>
- Bohmann, K., Evans, A., Gilbert, M.T.P., Carvalho, G.R., Creer, S., Knapp, M., Yu, D.W., de Bruyn, M., 2014. Environmental DNA for wildlife biology and biodiversity monitoring. *Trends in Ecology & Evolution* 29, 358–367. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2014.04.003>
- Capinha, C., Larson, E.R., Tricarico, E., Olden, J.D., Gherardi, F., 2013. Effects of climate change, invasive species, and disease on the distribution of native European crayfishes. *Conservation Biology* 27, 731–740. <https://doi.org/10.1111/cobi.12043>
- Dorazio, R.M., Erickson, R.A., 2018. ednaoccupancy: An r package for multiscale occupancy modelling of environmental DNA data. *Molecular Ecology Resources* 18, 368–380. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12735>
- Harper, K.J., Anucha, N.P., Turnbull, J.F., Bean, C.W., Leaver, M.J., 2018. Searching for a signal: Environmental DNA (eDNA) for the detection of invasive signal crayfish, *Pacifastacus leniusculus* (Dana, 1852). *Management of Biological Invasions* 9, 137–148.
- Holdich, D., Reynolds, J., Souty-Grosset, C., Sibley, P., 2009. A review of the ever increasing threat to European crayfish from non-indigenous crayfish species. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* 11, 394–395.
- Lahoz-Monfort, J.J., Guillera-Aroita, G., Tingley, R., 2016. Statistical approaches to account for false-positive errors in environmental DNA samples. *Molecular Ecology Resources* 16, 673–685. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12486>
- Larson, E.R., Renshaw, M.A., Gantz, C.A., Umek, J., Chandra, S., Lodge, D.M., Egan, S.P., 2017. Environmental DNA (eDNA) detects the invasive crayfishes *Orconectes rusticus* and *Pacifastacus leniusculus* in large lakes of North America. *Hydrobiologia* 800, 173–185. <https://doi.org/10.1007/s10750-017-3210-7>
- Lodge, D.M., Deines, A., Gherardi, F., Yeo, D.C.J., Arcella, T., Baldrige, A.K., Barnes, M.A., Chadderton, W.L., Feder, J.L., Gantz, C.A., Howard, G.W., Jerde, C.L., Peters, B.W., Peters, J.A., Sargent, L.W., Turner, C.R., Wittmann, M.E., Zeng, Y., 2012. Global introductions of crayfishes: evaluating the impact of species invasions on ecosystem services. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 43, 449–472. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-111511-103919>
- Mächler, E., Deiner, K., Spahn, F., Altermatt, F., 2016. Fishing in the water: effect of sampled water volume on environmental DNA-based detection of macroinvertebrates. *Environmental Science & Technology* 50, 305–312. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b04188>
- Mauvisseau, Q., Coignet, A., Delaunay, C., Pinet, F., Bouchon, D., Souty-Grosset, C., 2018. Environmental DNA as an efficient tool for detecting invasive crayfishes in freshwater ponds. *Hydrobiologia* 805, 163–175. <https://doi.org/10.1007/s10750-017-3288-y>
- Mieuzet, V., 2016. L'écrevisse à pattes blanches (*Austropotamobius pallipes*), espèce encore présente sur le bassin de la Sélune ? Rapport de stage BTS GPN, 64p.
- Nichols, J.D., Bailey, L.L., O'Connell Jr., A.F., Talancy, N.W., Grant, E.H.C., Gilbert, A.T., Annand, E.M., Huband, T.P., Hines, J.E., 2008. Multi-scale occupancy estimation and modelling using multiple detection methods. *Journal of Applied Ecology*, 45, 1321–1329. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2008.01509.x>
- Petit, E., Acou, A., Azam, D., Bardonnnet, A., Barloy, D., Benneveault, Y., Besnard, A.-L., Bolliet, V., Boulenger, C., Coste, P., Coudreuse, J., Daroux, A., Evanno, G., Feunten, E., Forget, G., Guillard, J., Huchet, E., Huteau, D., Lassalle, G., Launey, S., Le Quilliec, P., Macel, N., Manicki, A., Marchand, F., Martignac, F., Nevoux, M.,

- Oger, A., Ombredane, D., Paillisson, J.-M., Poupelin, M., Réveillac, E., Rault, P., Rives, J., Fraise, S., Baglinière, J.-L., 2017. Dispersion et (re)colonisation du cours de la Sélune et de ses affluents - Rapport final des travaux liés à la convention annuelle 1054505-1. Agence de l'Eau Seine-Normandie, 46 p.
- Robinson, C.V., Uren Webster, T.M., Cable, J., James, J., Consuegra, S., 2018. Simultaneous detection of invasive signal crayfish, endangered white-clawed crayfish and the crayfish plague pathogen using environmental DNA. *Biological Conservation* 222, 241–252. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2018.04.009>
- Roussel, J.-M., Paillisson, J.-M., Tréguier, A., Petit, E., 2015. The downside of eDNA as a survey tool in water bodies. *Journal of Applied Ecology* 52, 823–826. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12428>
- Schmelzle, M.C., Kinziger, A.P., 2016. Using occupancy modelling to compare environmental DNA to traditional field methods for regional-scale monitoring of an endangered aquatic species. *Molecular Ecology Resources* 16, 895–908. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12501>
- Schmidt, B.R., Kéry, M., Ursenbacher, S., Hyman, O.J., Collins, J.P., 2013. Site occupancy models in the analysis of environmental DNA presence/absence surveys: a case study of an emerging amphibian pathogen. *Methods in Ecology and Evolution* 4, 646–653. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12052>
- Strand, D.A., Johnsen, S.I., Rusch, J.C., Agersnap, S., Larsen, W.B., Knudsen, S.W., Møller, P.R., Vrålstad, T., 2019. Monitoring a Norwegian freshwater crayfish tragedy - eDNA snapshots of invasion, infection and extinction. *Journal of Applied Ecology*, in press. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13404>
- Tréguier, A., Paillisson, J.-M., Dejean, T., Valentini, A., Schlaepfer, M.A., Roussel, J.-M., 2014. Environmental DNA surveillance for invertebrate species: advantages and technical limitations to detect invasive crayfish *Procambarus clarkii* in freshwater ponds. *Journal of Applied Ecology* 51, 871–879. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12262>
- Twardochleb, L. A., Olden, J. D., Larson, E. R., 2013. A global meta-analysis of the ecological impacts of nonnative crayfish. *Freshwater Science* 32, 1367–1382.
- Vallet, D., Petit, E., Gatti, S., Levréro, F., Ménard, N., 2008. A new 2CTAB/PCI method improves DNA amplification success from faeces of Mediterranean (Barbary macaques) and tropical (lowland gorillas) primates. *Conservation Genetics* 9, 677–680.
- Vrålstad, T., Knutsen, A.K., Tengs, T., Holst-Jensen, A., 2009. A quantitative TaqMan® MGB real-time polymerase chain reaction based assay for detection of the causative agent of crayfish plague *Aphanomyces astaci*. *Veterinary Microbiology* 137, 146–155. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.12.022>
- Watanabe, S., 2010. Asymptotic equivalence of Bayes cross validation and widely applicable information criterion in singular learning theory. *Journal of Machine Learning* 11, 3571–3594.