



HAL
open science

Effets des arasements sur le fonctionnement des réseaux trophiques - Avancement des travaux 2015

Jean-Marc Roussel, Dominique D. Barloy, Caroline Gorzerino, Dominique Huteau, Eric Petit, Maxime Poupelin, Guillaume Bouger, J.M. Paillisson, A. Pannard, C. Piscart

► To cite this version:

Jean-Marc Roussel, Dominique D. Barloy, Caroline Gorzerino, Dominique Huteau, Eric Petit, et al.. Effets des arasements sur le fonctionnement des réseaux trophiques - Avancement des travaux 2015. [Rapport de recherche] Agence de l'Eau Seine-Normandie. 2016, pp.23. hal-03357378

HAL Id: hal-03357378

<https://hal.inrae.fr/hal-03357378v1>

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 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 Rousse

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.

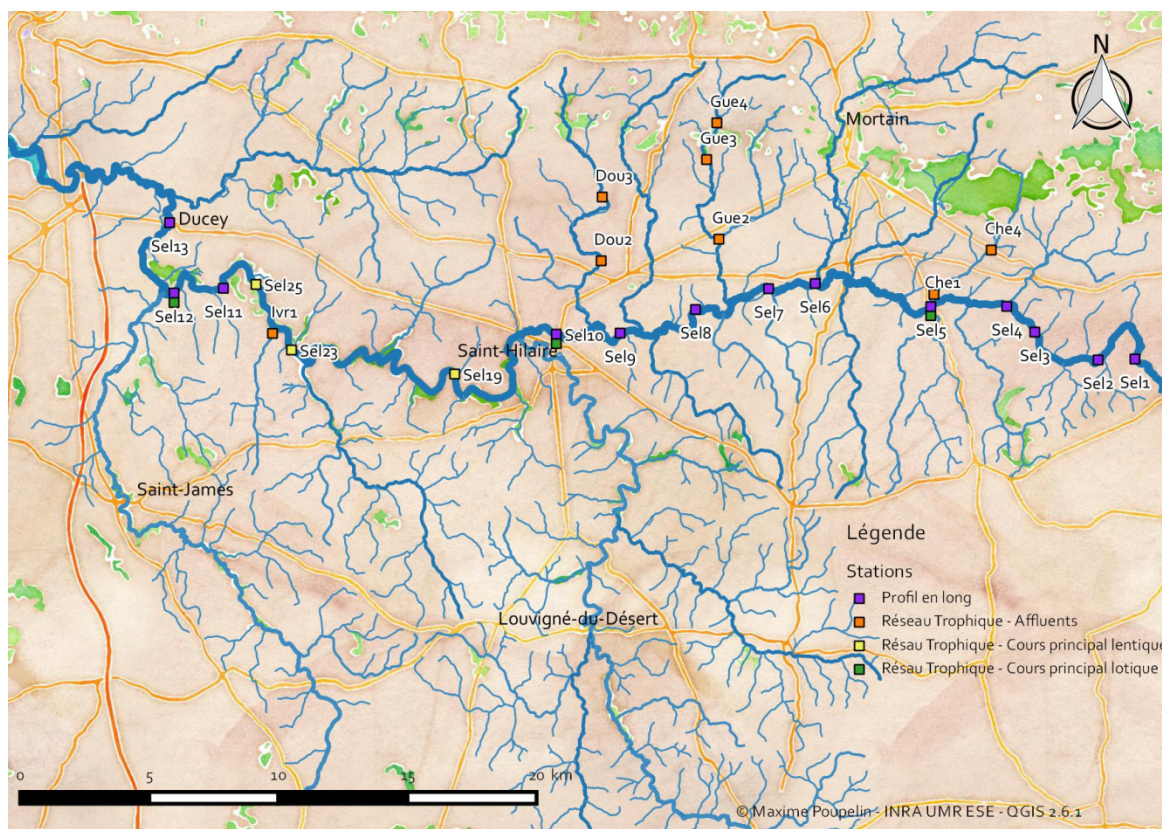


Figure 1. Les principales stations d'études retenues en 2014 et 2015 pour le projet « réseaux trophiques ».

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

	2014		2015	
	S1	S2	S1	S2
Echelle hydrosystème Sélune				
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
Travaux en laboratoire				
Préparation des échantillons isotopes		X	X	X
Préparation et analyse de barcoding alimentaire			X report	X report
Analyse des isotopes stables (prestations externes)				X
Interprétation des résultats				
Valorisation			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}C), deux mécanismes peuvent être à l'œuvre, éventuellement de manière additive: 1) un DIC enrichi en ^{13}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}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}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.

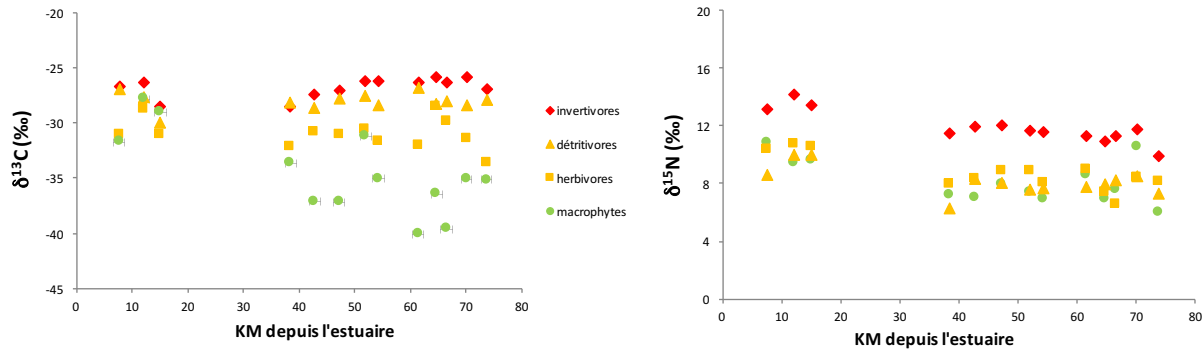


Figure 2. Proportion (‰, axes des ordonnées) en isotopes lourds du carbone (graphique de gauche, notation conventionnelle $\delta^{13}\text{C}$) et de l'azote (graphique de droite, notation conventionnelle $\delta^{15}\text{N}$) dans les organismes aquatiques collectés sur le cours principal de la Sélune (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
6 stations pilote sur la Sélune				
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	
Travaux en laboratoire				
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
Interprétation des résultats			X	X
Valorisation				

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 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 taxas) 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-Callitrichetum hamulatae*).

L'hydrologie contrastée de la station aval SEL12 entraine 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.

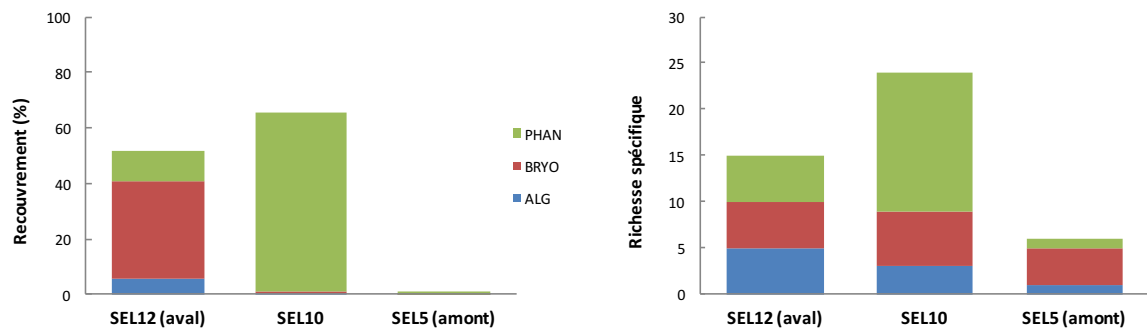


Figure 4. Répartition des différents groupes taxonomiques de macrophytes sur le cours principal de la Sélune (amont et aval des retenues) en juillet 2015, selon l'abondance (à gauche, pourcentage de recouvrement sur la station) et la richesse spécifique (à droite, nombre d'espèces).

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^{-1}).

Les lames ont été retirées des caquettes 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.

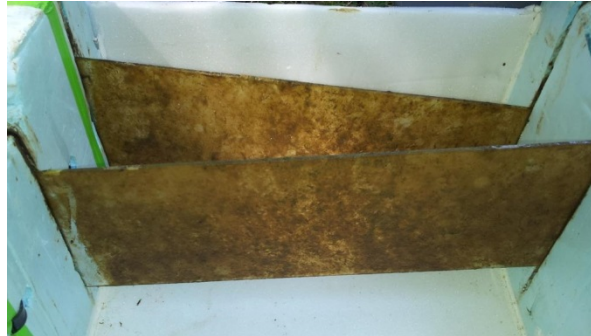


Figure 5. Lames colonisées après 1 mois d'immersion sur une station de la Sélune

La biomasse de phytoplancton est très faible, que ce soit dans les stations lotiques ou lenticques, avec des concentrations entre 2 et 3 $\mu\text{g chl}a/\text{L}$ d'après le phytoPAM (**Figure 6**), atteignant 9 $\mu\text{g chl}a/\text{L}$ 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.

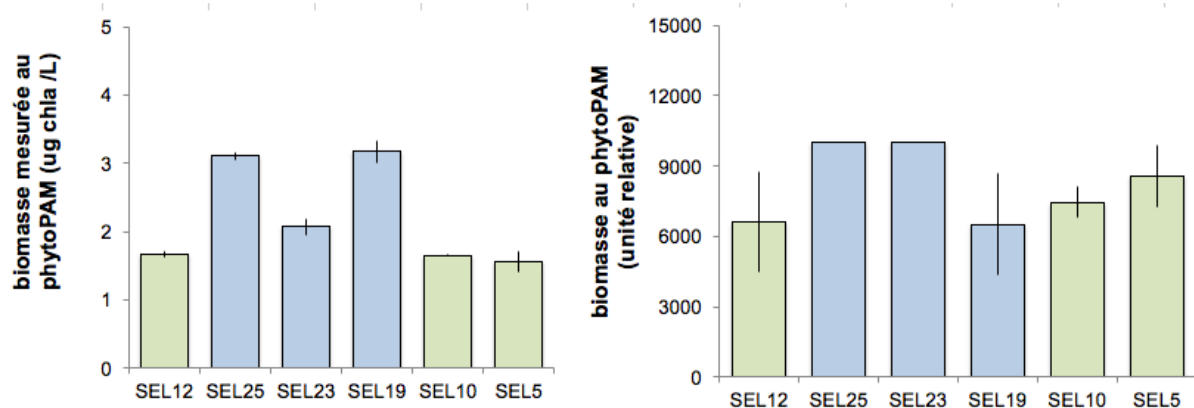


Figure 6. Biomasses du phytoplancton (gauche) et du biofilm (droite) sur les stations d'études. Les traits verticaux représentent les écarts types autour de chaque moyenne ; les barres bleues et vertes correspondent aux stations lenticques et lotiques, respectivement.

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.

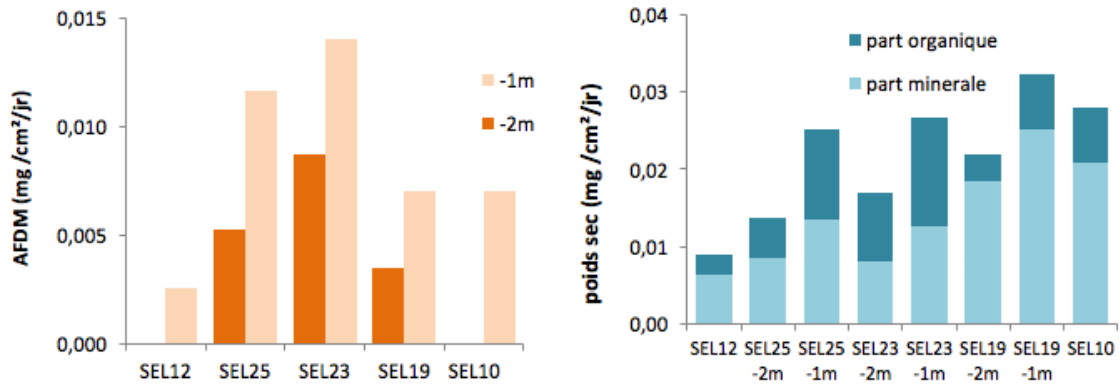


Figure 7. Biofilm des stations du cours principal. A gauche : mesure du poids sec sans cendre à 1m et 2m de profondeur dans les retenues, ou sur le fond dans la rivière (SEL 10 et SEL 11). A droite : parts relatives des composantes organiques et minérales du biofilm.

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.

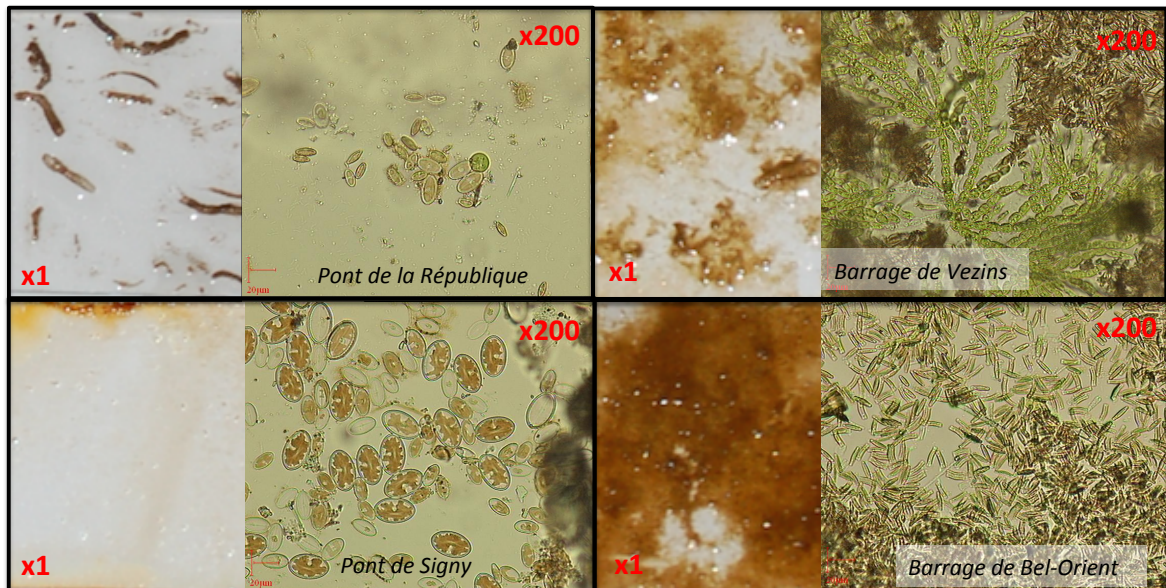


Figure 8. Photographie du biofilm collecté sur les lames de verre (x1) et vue au microscope (x200), dans les stations amont et aval des barrages (photos de gauche) et dans les barrages (à droite).

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)

De 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.

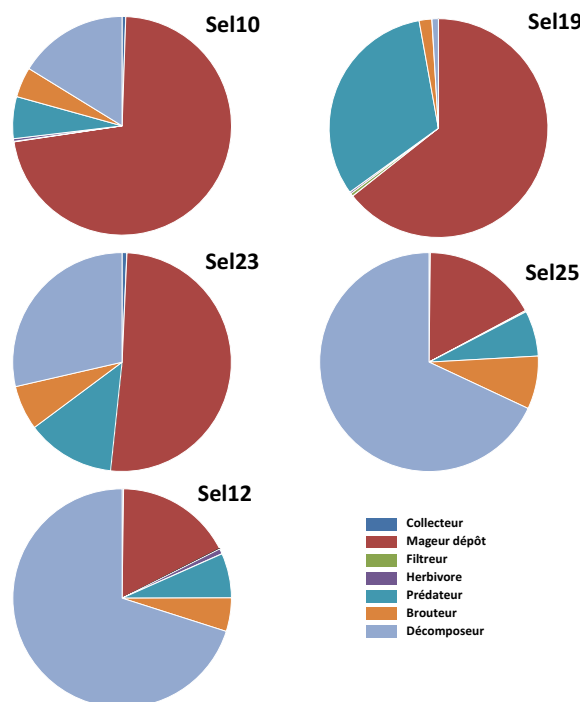


Figure 9. Proportions relatives des principales guildes trophiques dans les communautés d'invertébrés sur les stations de la Sélune en Mars 2015 (sauf pour SEL5).

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 × l × h : 50×29×19 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 ± 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.

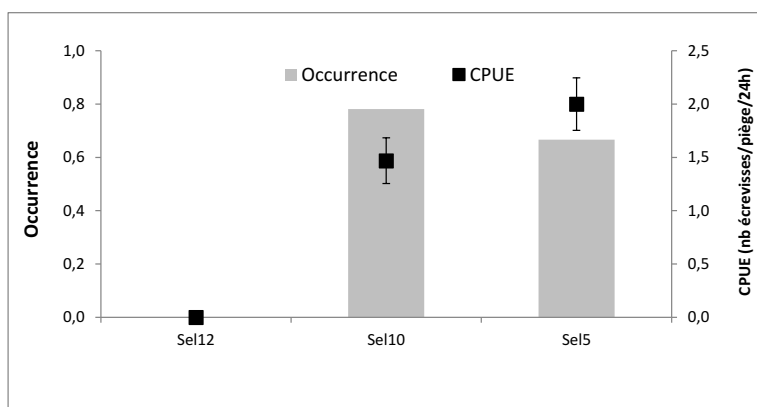


Figure 10. Occurrence (% de pièges contenant au moins une écrevisse) et abondance (Capture Par Unité d'Effort, CPUE, en nombre d'individus par piège et par 24h) de l'écrevisse signal dans les 3 stations lotiques de la Sélune. Les barres verticales représentent les écarts-types autour des moyennes (pour 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 électrifiée est manœuvrée en légers mouvements circulaires, le rayon d'action de l'électricité garantissant l'échantillonnage de 4 m² 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 m². 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.

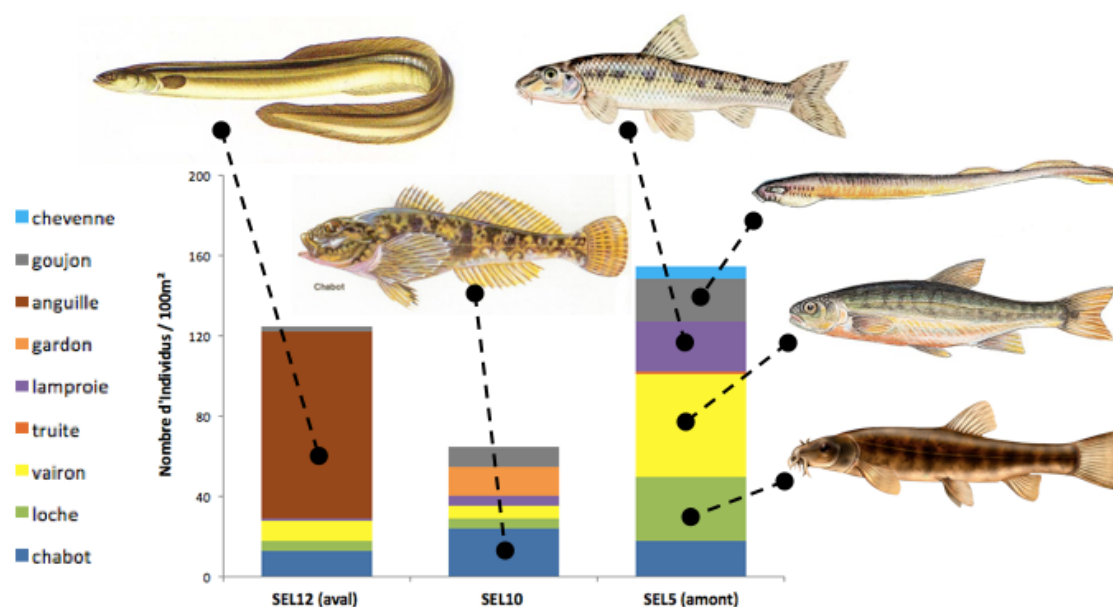


Figure 11. Variations de densités des espèces de poissons présentes sur les 3 stations lotiques de référence pour caractériser les réseaux trophiques du cours principal de la Sélune.

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.

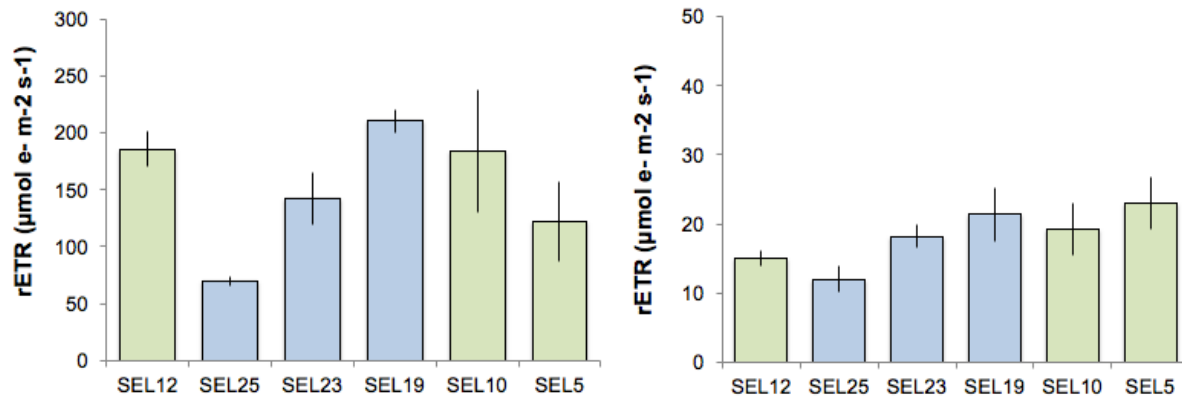


Figure 12. Activité photosynthétique moyenne du phytoplancton (gauche) et du biofilm (droite) sur les stations d'études. Les traits verticaux représentent les écarts types autour de chaque moyenne ; les barres bleues et vertes correspondent aux stations lentiques et lotiques, respectivement.

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*, *Thamniium 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
8 stations pilote sur 5 affluents de la Sélune				
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	
Travaux en laboratoire				
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
Interprétation des résultats			X	X
Valorisation				

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 ammoniac-tolérante) et de vauchéries (algues), probablement en lien avec une altération de la qualité physicochimique de l'eau sur l'aval de ces affluents.

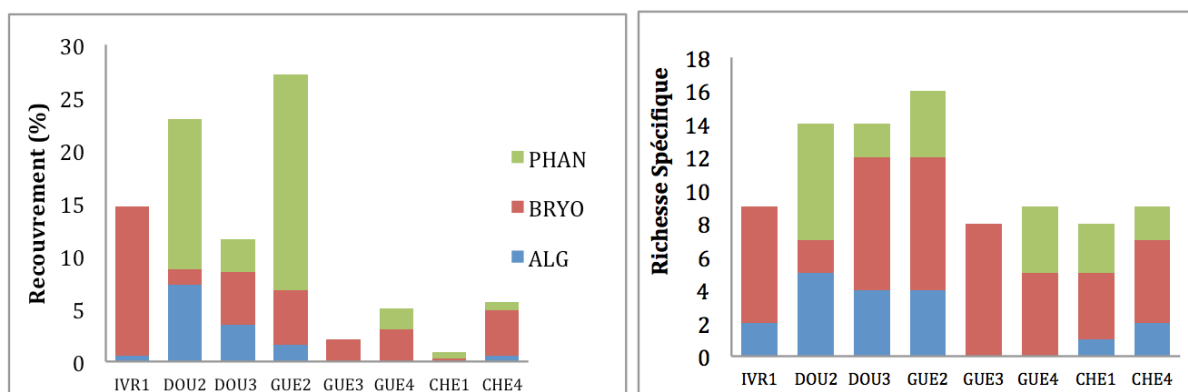


Figure 13. Répartition des différents groupes taxonomiques de macrophytes sur les affluents de la Sélune en 2015, selon l'abondance (à gauche, pourcentage de recouvrement sur la station) et la richesse spécifique (à droite, nombre d'espèces).

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).

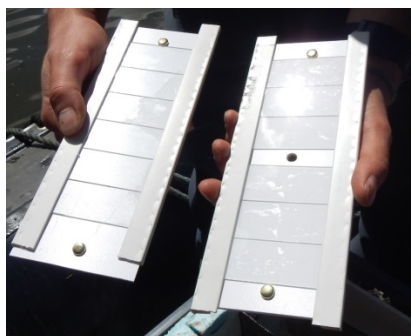


Figure 14. Supports avec lames en verre posés dans le lit des affluents.

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.

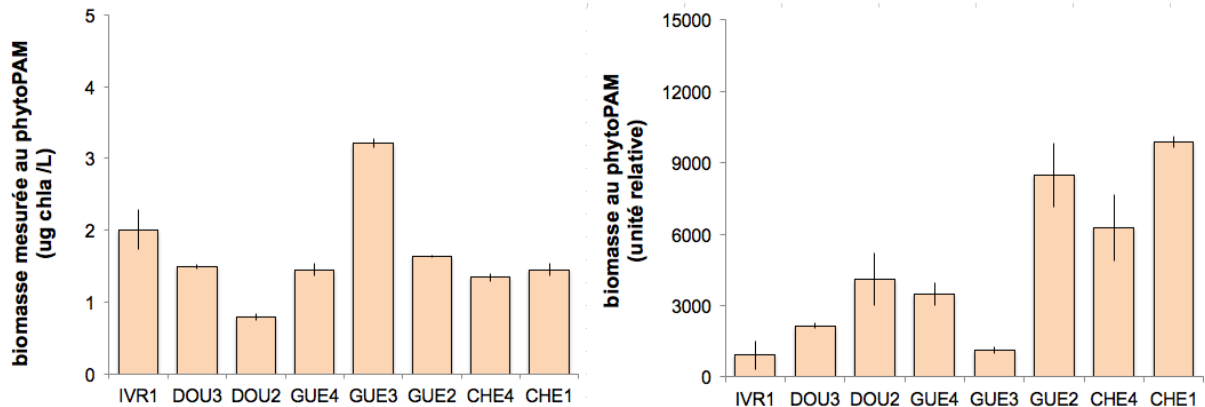


Figure 15. Biomasses du phytoplancton (gauche) et du biofilm (droite) sur les stations d'études. Les traits verticaux représentent les écarts types autour de chaque moyenne.

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.

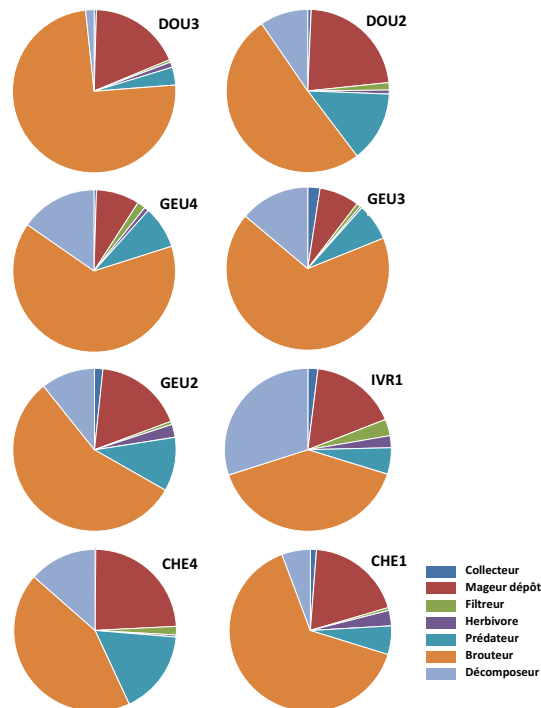


Figure 16. Proportions relatives des principales guildes trophiques des communautés d'invertébrés sur les huit stations des affluents en Mars 2015.

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.

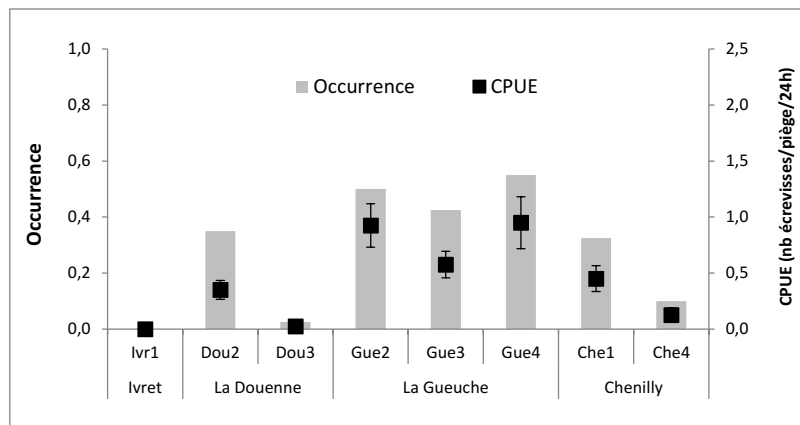


Figure 17. Occurrence (% de pièges contenant au moins une écrevisse) et abondance (Capture Par Unité d'Effort, CPUE, en nombre d'individus par piège et par 24h) de l'écrevisse signal dans les 8 stations sur les affluents de la Sélune. Les barres verticales représentent les écarts-types autour des moyennes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

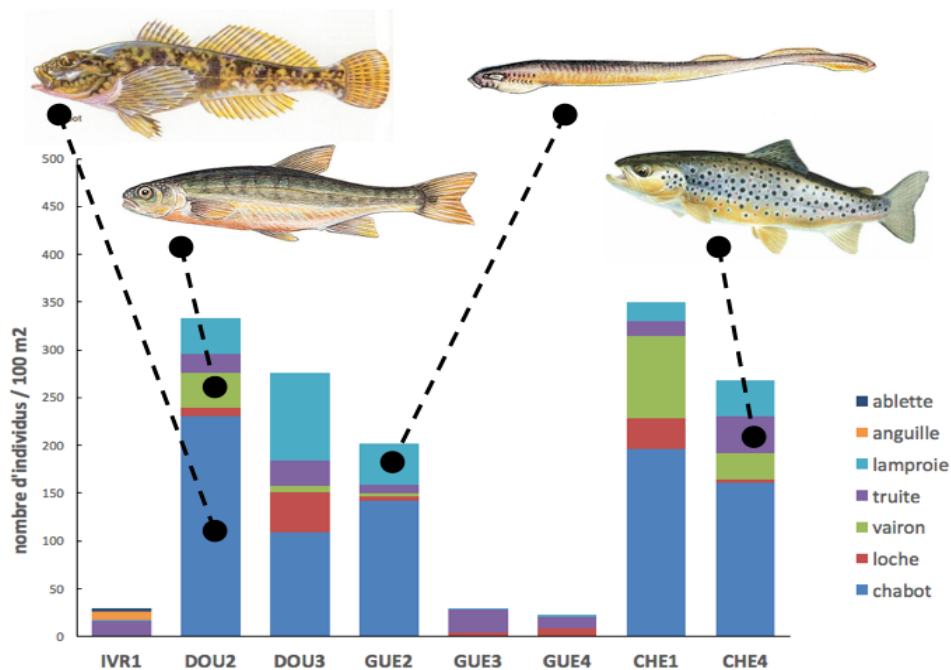


Figure 18. Variations de densités des espèces de poissons présentes sur les 8 stations lotiques de référence pour caractériser les réseaux trophiques des affluents de la Sélune.

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.

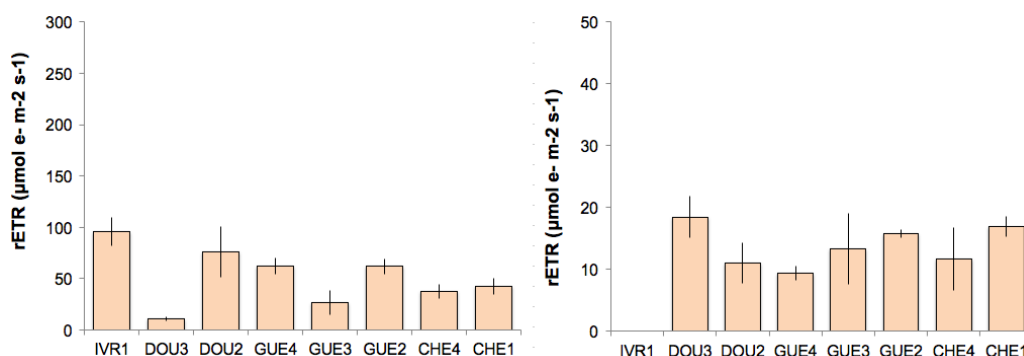


Figure 19. Activité photosynthétique moyenne du phytoplancton (gauche) et du biofilm (droite) sur les stations d'études. Les traits verticaux représentent les écarts types autour de chaque moyenne.

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% (± 22) de masse perdue en moyenne au bout des 51 jours de dégradation. Le châtaignier a une dégradation intermédiaire avec 29% (± 17) de masse perdue au bout des 51 jours. Enfin, les masses de feuilles de chêne ne commencent à diminuer qu'après le 27ème d'immersion, pour atteindre seulement 6% (± 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 (0.05m²) afin de corrélérer le taux de dégradation de la litière et la biomasse en invertébrés décomposeur.

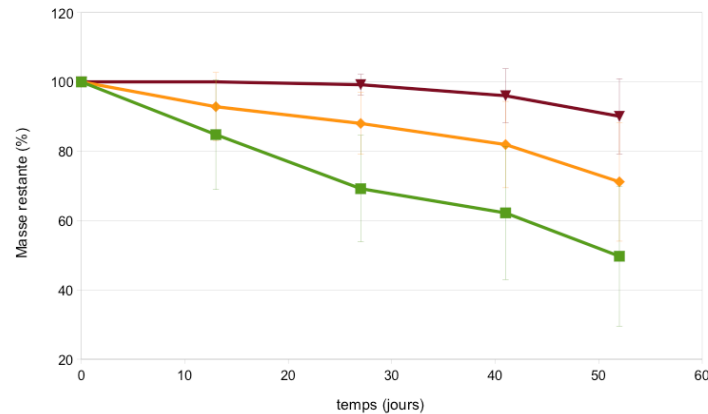


Figure 20. Evolution des masses de feuille au cours du temps (moyenne \pm écart type), pour les feuilles d'aulne (en vert), de châtaignier (en orange) et de chêne (en rouge) pendant la période d'étude.

Les résultats montrent que la durée du conditionnement préalable des feuilles a un effet différent selon l'essence (**Figure 21**). Ainsi, la dégradation de l'aulne après 21 jours reste similaire pour les différents conditionnements préalables (t0, t1 et t2). 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.

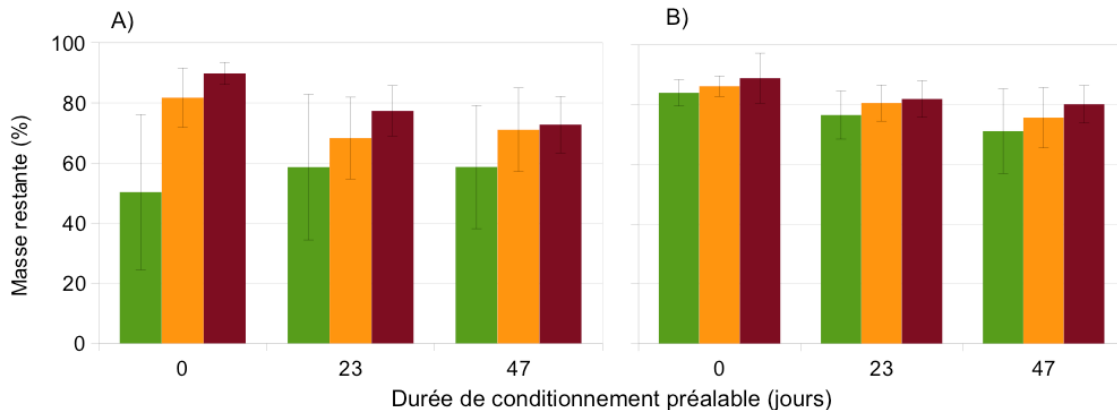


Figure 21. Masse de feuille restante (moyenne \pm écart type), pour les feuilles d'aulne (vert), de châtaignier (orange) et de chêne (rouge), après 21 jours de dégradation en présence (A) ou en absence (B) d'invertébrés, selon 3 durées de conditionnement préalable (t0 = sans conditionnement, t1 = 23 jours et t2 = 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.