Effets des arasements sur le fonctionnement des réseaux trophiques - Avancement des travaux 2016

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

▶ **To cite this version:**

Jean-Marc Roussel, Julie Coudreuse, Caroline Gorzerino, Dominique Huteau, Eric Petit, et al.. Effets des arasements sur le fonctionnement des réseaux trophiques - Avancement des travaux 2016. [Rapport de recherche] Agence de l'Eau Seine-Normandie. 2017, pp.30. hal-03357360

HAL Id: hal-03357360
https://hal.inrae.fr/hal-03357360

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 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 minimes. 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).

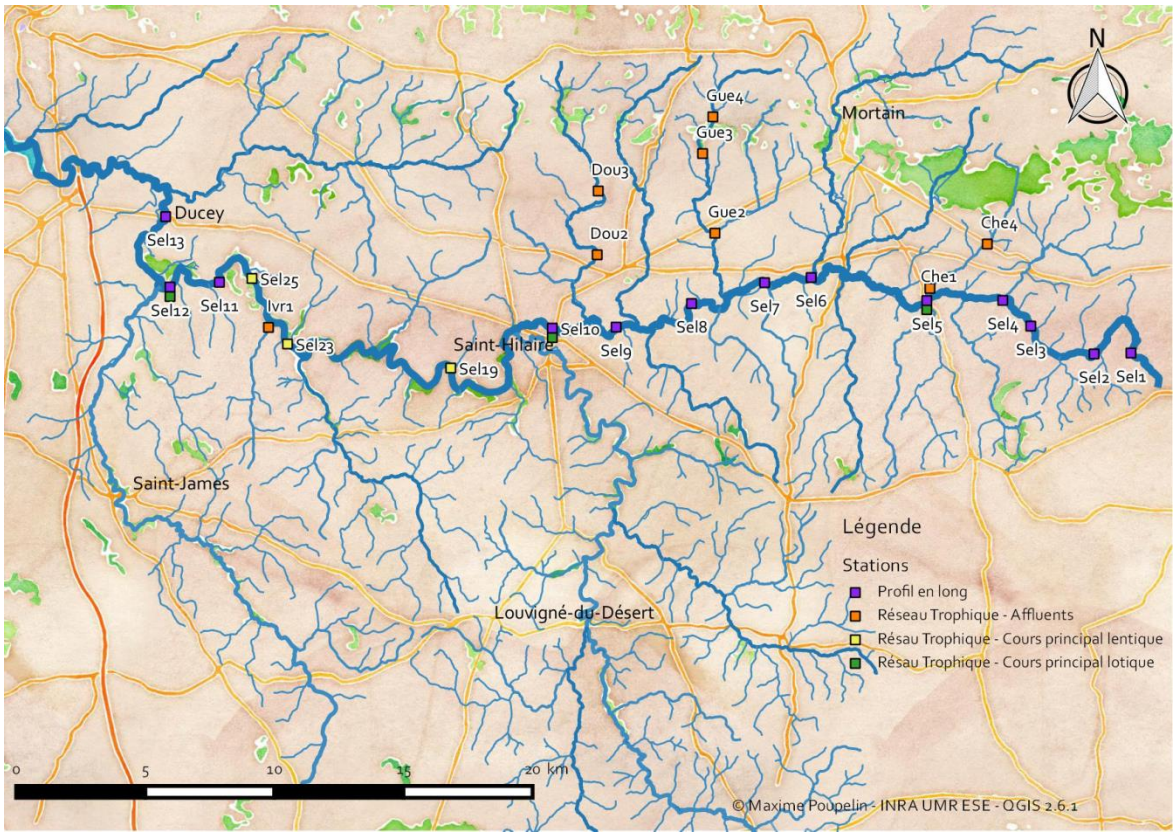


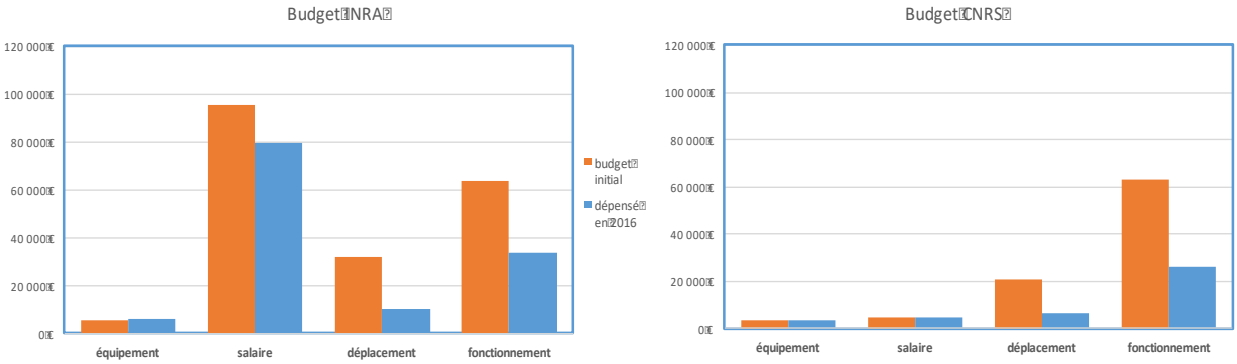
***Figure 1**. Les principales stations d'études retenues depuis 2014 pour le projet « réseaux trophiques ».*

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*
Echelle hydrosystème Sélune						
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**
Travaux en laboratoire						
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
Interprétation des résultats			X	X	X	X
Valorisation				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 chaines 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 faite en 2014 et 2015 sur les 13 stations (voir la carte Figure 1). En 2016, des prélèvements complémentaires ont été fait sur les même 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 chaines 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 chaines 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 azotes 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 révèlera 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.

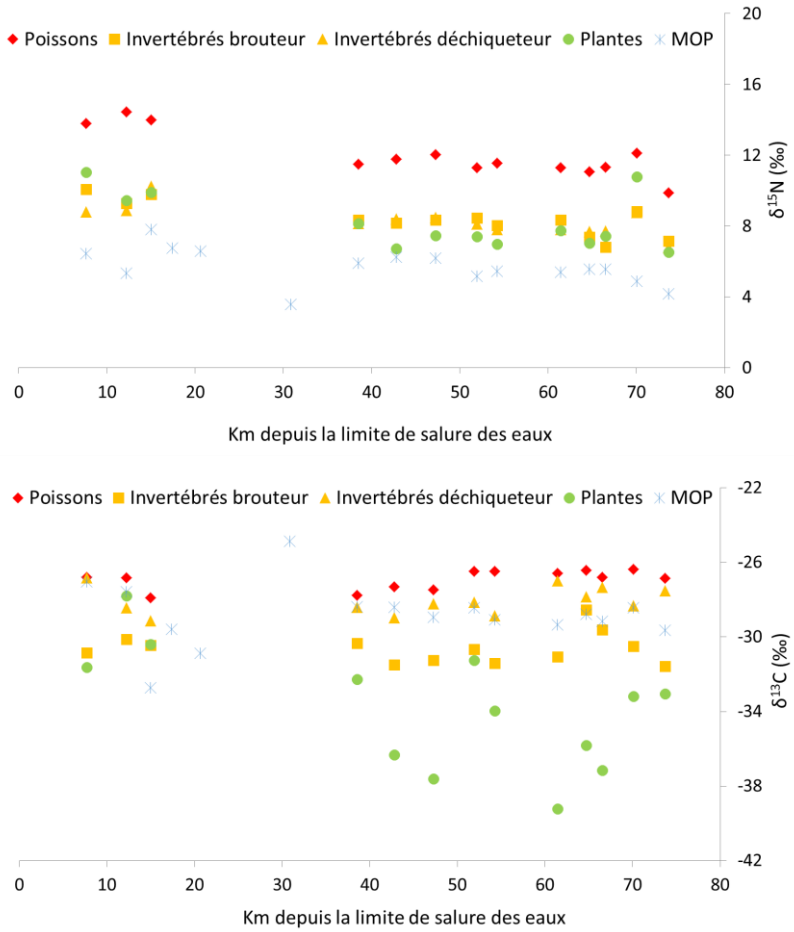


Figure 2. *Proportion (‰, axes des ordonnées) en isotopes lourds du carbone (graphique du bas, notation conventionnelle $\delta^{13}C$) et de l'azote (graphique du haut, notation conventionnelle $\delta^{15}N$) dans les organismes aquatiques collectés sur le cours principal de la Sélune (été 2014 et 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 particulaire (MOP), réalisés en 2016, ont également été analysés par filtration d'eau, y compris dans les deux lacs.*

2- **<u>Essais de détectabilité par ADN environnemental</u>** : 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 était (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.

	Covariable de détection (effet)	Covariable de présence (effet)	Probabilité de détection	Probabilité de présence	AIC	ΔAIC
m0	-	-			1257,23	181,41
m1	-	débit (- ; NS)			1238,40	162,58
m2	-	Det_Sprec (+ ; S)			1100,83	25,01
m4	CPUE (+ ; NS)	-			1259,14	183,32
m5	débit (+ ; NS)	-			1237,99	162,17
m6	Vfiltré (+ ; NS)	-			1255,08	179,26
m7	Det_Sprec (+ ; S)	-			1086,80	10,98
m13	Det_Sprec (+ ; S) Vfiltre (+ ; S)	-			1079,78	3,96
m37	Det_Sprec (+ ; S)	Det_Sprec (+ ; S)			1082,87	1082,87
m42	Det_Sprec (+ ; S) Vfiltre (+ ; S)	Det_Sprec (+ ; S)			1075,82	0,00
m57	Det_Sprec (+ ; S) Vfiltre (+ ; S)	débit (- ; NS) Det_Sprec (+ ; S)			1077,11	1,29

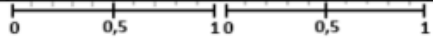


Figure 3. *Analyse statistique des probabilités de détection et probabilité de présence de l'écrevisse du Pacifique dans 4 stations du bassin versant de la Sélune à l'aide la fonction occu (package unmarked, R). Quelques modèles sont montrés ici, avec leur AIC. CPUE : Capture Par Unité d'Effort (indice 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.

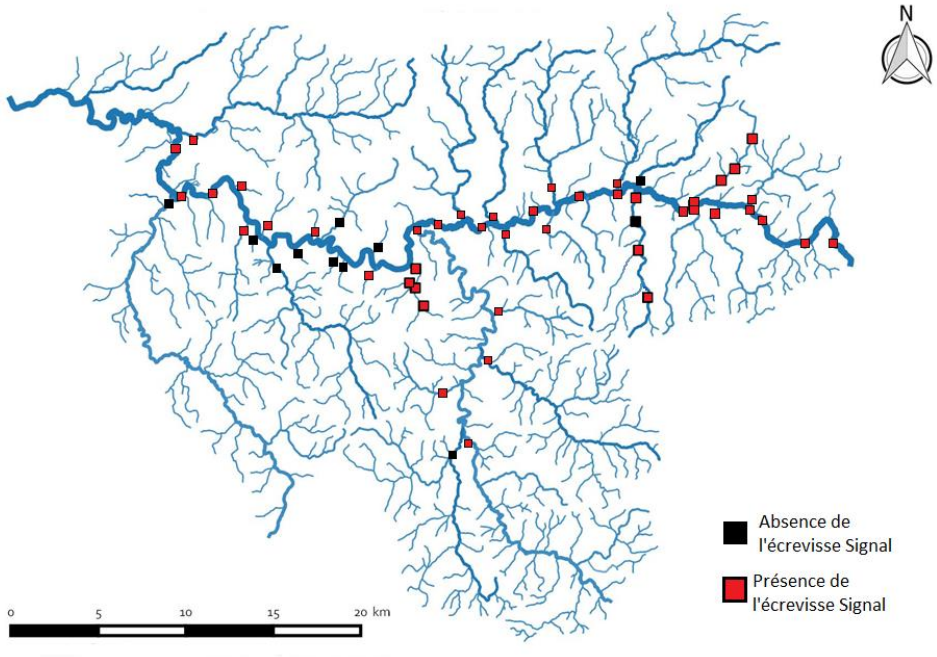


Figure 4. *Détection de l'écrevisse signal par PCR quantitative d'échantillons d'ADN issus de prélèvements d'eau dans 55 stations du bassin versant de la Sélune.*

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- **<u>Distribution spatiale des espèces d'écrevisse</u>** (Jean-Marc Paillisson, Ecobio ; Maxime Poupelin, ESE; Valentin Mieuzet, 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'Assemblé 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 termes constituer un outil d'inventaire consensuel applicable à large échelle.

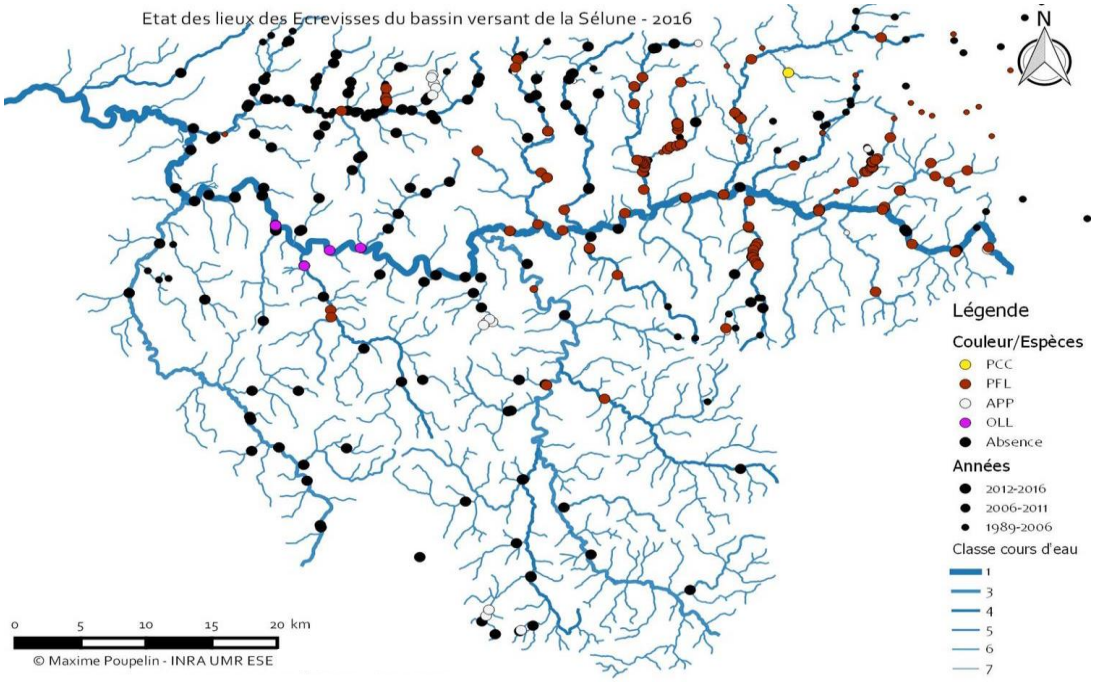


Figure 5. *Distribution des espèces d'écrevisses sur le bassin hydrographique de la Sélune : écrevisse de Louisiane (Procambarus clarkii, PCC) en jaune, écrevisse signal (Pacifastacus leniusculus, PFL) en rouge, écrevisse à pattes blanches (Austropotamobius pallipes, APP) en blanc, écrevisse américaine (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 le 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 pas 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 permettent 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 (*Austropotamobius pallipes*), 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*
6 stations pilote sur la Sélune						
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**		
Travaux en laboratoire						
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
Interprétation des résultats			X	X	X	X
Valorisation						

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 lentique (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}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 phyto-PAM : 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.

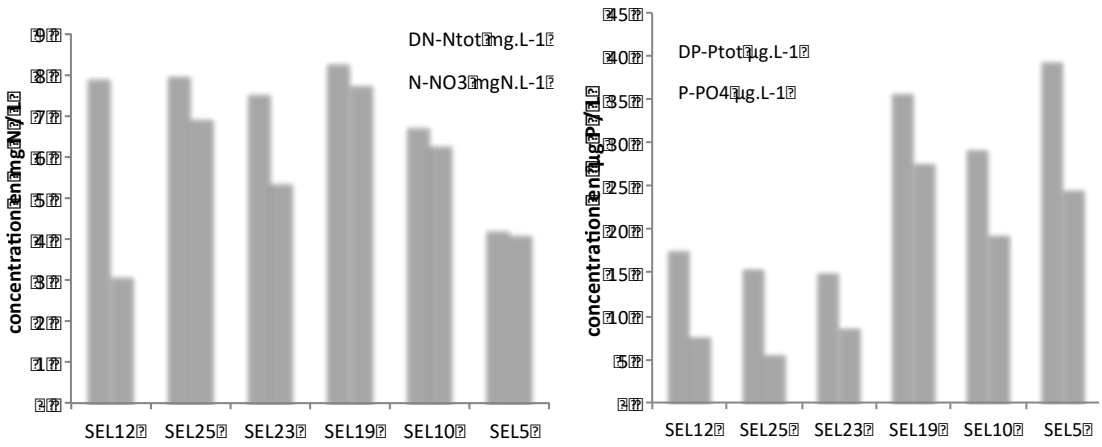


Figure 7. *Concentration en nutriments aux différentes stations : (a) concentration en nitrates et azote total dissous et (b) concentrations en orthophosphates et phosphore total dissous.*

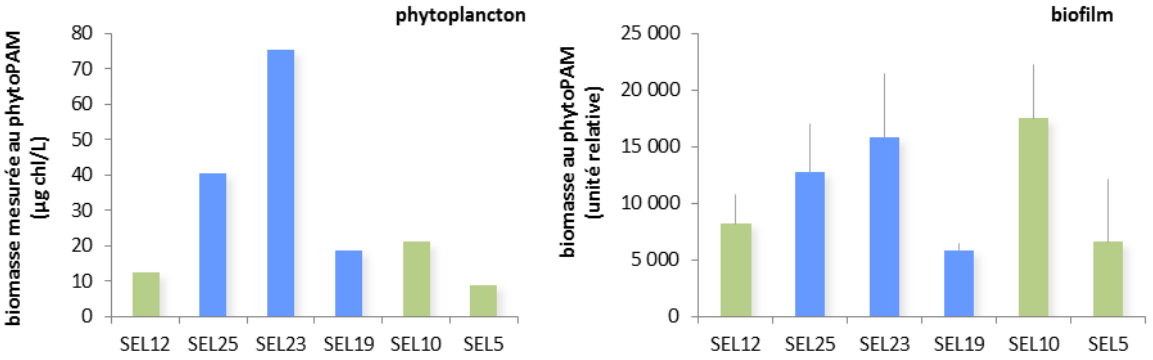


Figure 8. *Biomasses mesurées par le phytoPAM pour le phytoplancton (gauche) et le biofilm (droite) sur les stations d'études. Les traits verticaux représentent les écarts types autour de chaque moyenne ; les barres bleues et vertes correspondent aux stations lentiques et lotiques, respectivement.*

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 lentique/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.

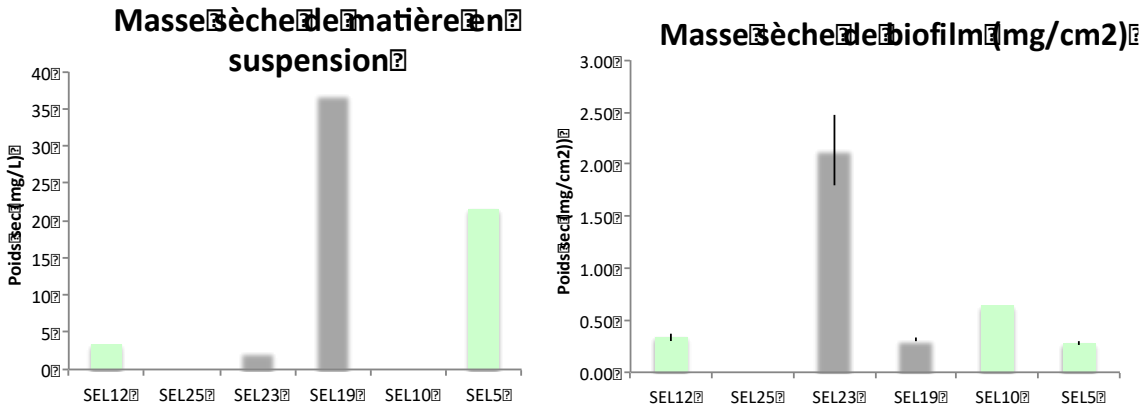


Figure 9 : *Masse sèche en suspension dans la colonne d'eau et masse sèche de biofilm, sur les stations du cours principal.*

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).

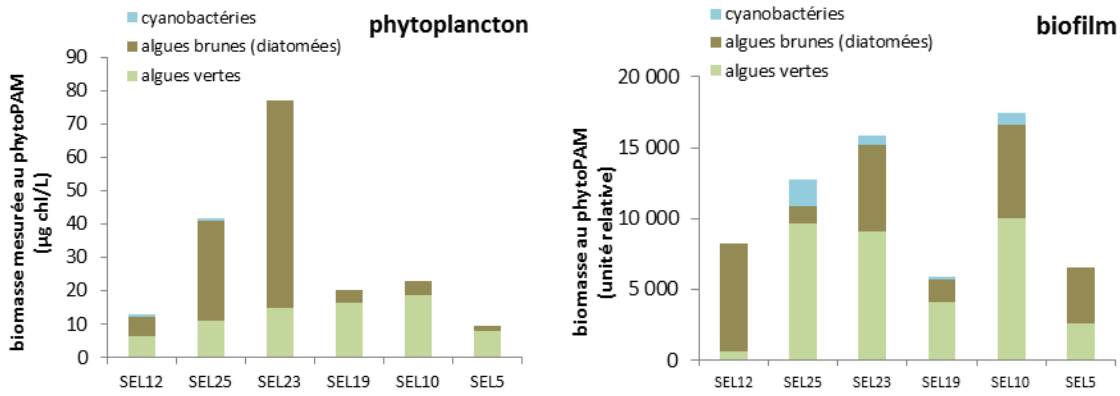


Figure 10. *Biomasses des 3 groupes spectraux mesurées par le phytoPAM pour le phytoplancton (gauche) et le biofilm (droite) sur les stations d'études.*

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 phytoplankton 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 (Selune 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 ^{13}C (Figure 12). L'incubation au ^{13}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 ^{13}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).

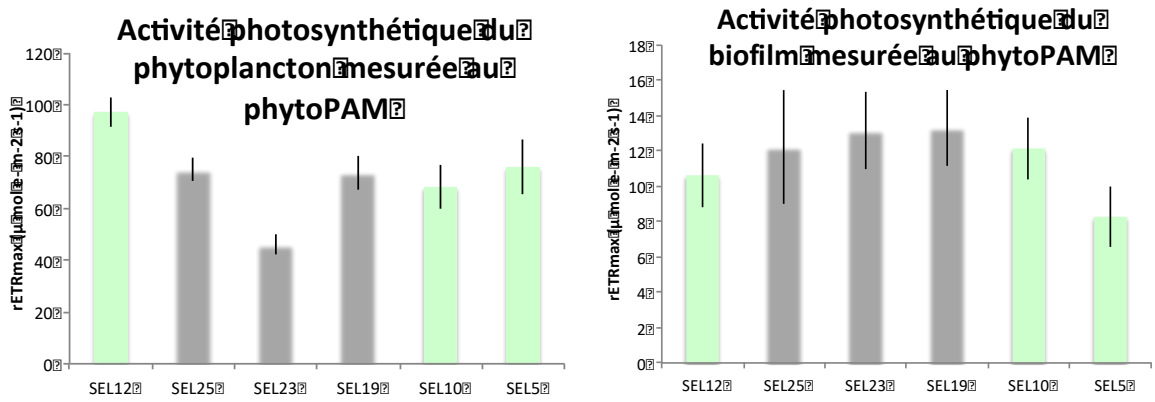


Figure 11. *Activité photosynthétique globale mesurée au phytoPAM pour le phytoplancton (gauche) et le biofilm (droite) sur les stations d'études.*

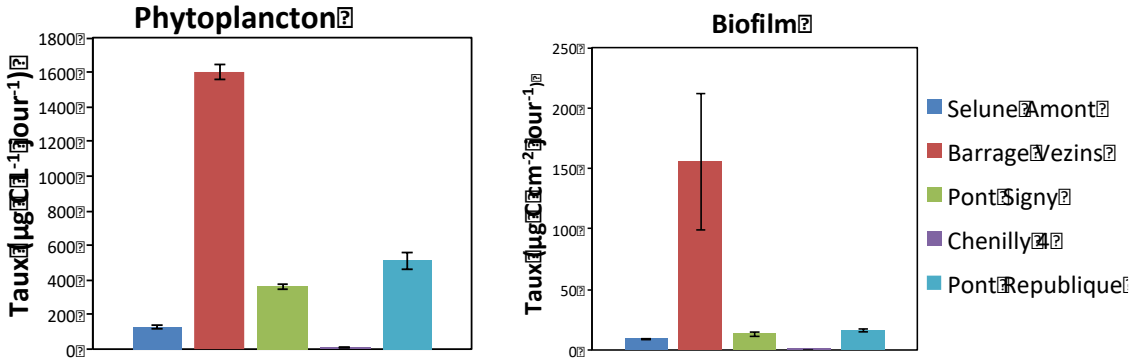


Figure 12. *Résultats préliminaires des taux d'incorporation de ^{13}C par unité de surface ou de volume pour le phytoplancton (gauche) et le biofilm (droite) sur les stations d'études.*

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 - ***<u>Les communautés d'invertébrés aquatiques</u>*** *(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 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 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.

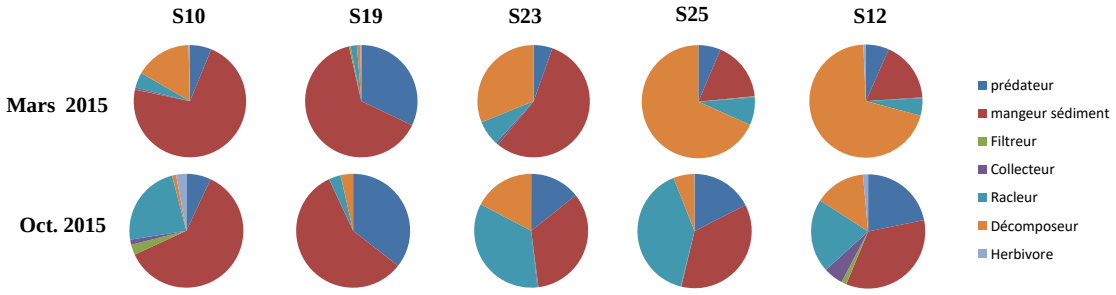


Figure 13. *Proportions relatives des principales guildes trophiques des communautés d'invertébrés sur les cinq stations de la Sélune en Mars et Octobre 2015.*

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. 4ième 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. 4ième 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.

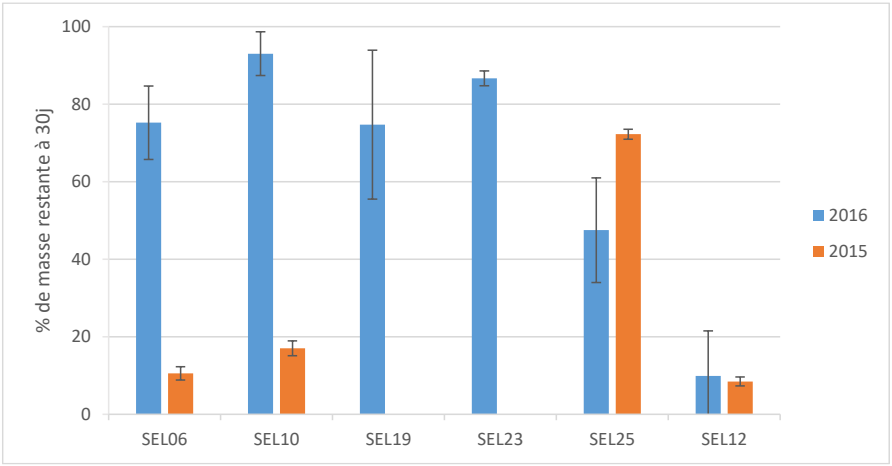


Figure 14. *Pourcentage de masse restante de litière d'Aulne (moyennes ± Erreur standard) dans les sacs après 30j d'immersion dans les 6 stations de la Sélune en 2015 et 2016.*

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 6.5m².

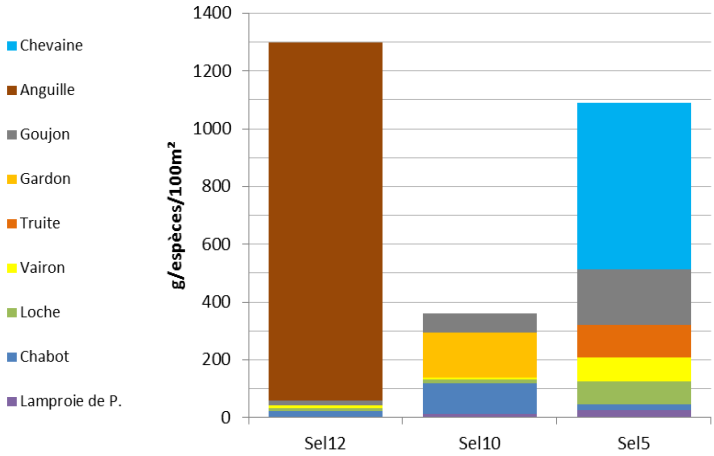


Figure 15. *Variations de la biomasse totale des espèces de poissons capturées par pêche électrique (méthode des points d'abondance) sur les 3 stations lotiques de référence.*

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 100m². 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/100m². La biomasse de poisson est beaucoup plus faible (0,35 Kg/100m²) 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 chevaine 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 envoyées 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 δ ($\delta^{13}C$ pour la carbone, $\delta^{15}N$ 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}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}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 au pouvait s'attendre eu égard le mode d'alimentation qu'on lui prête généralement (broyeur-déchiqueteur 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.

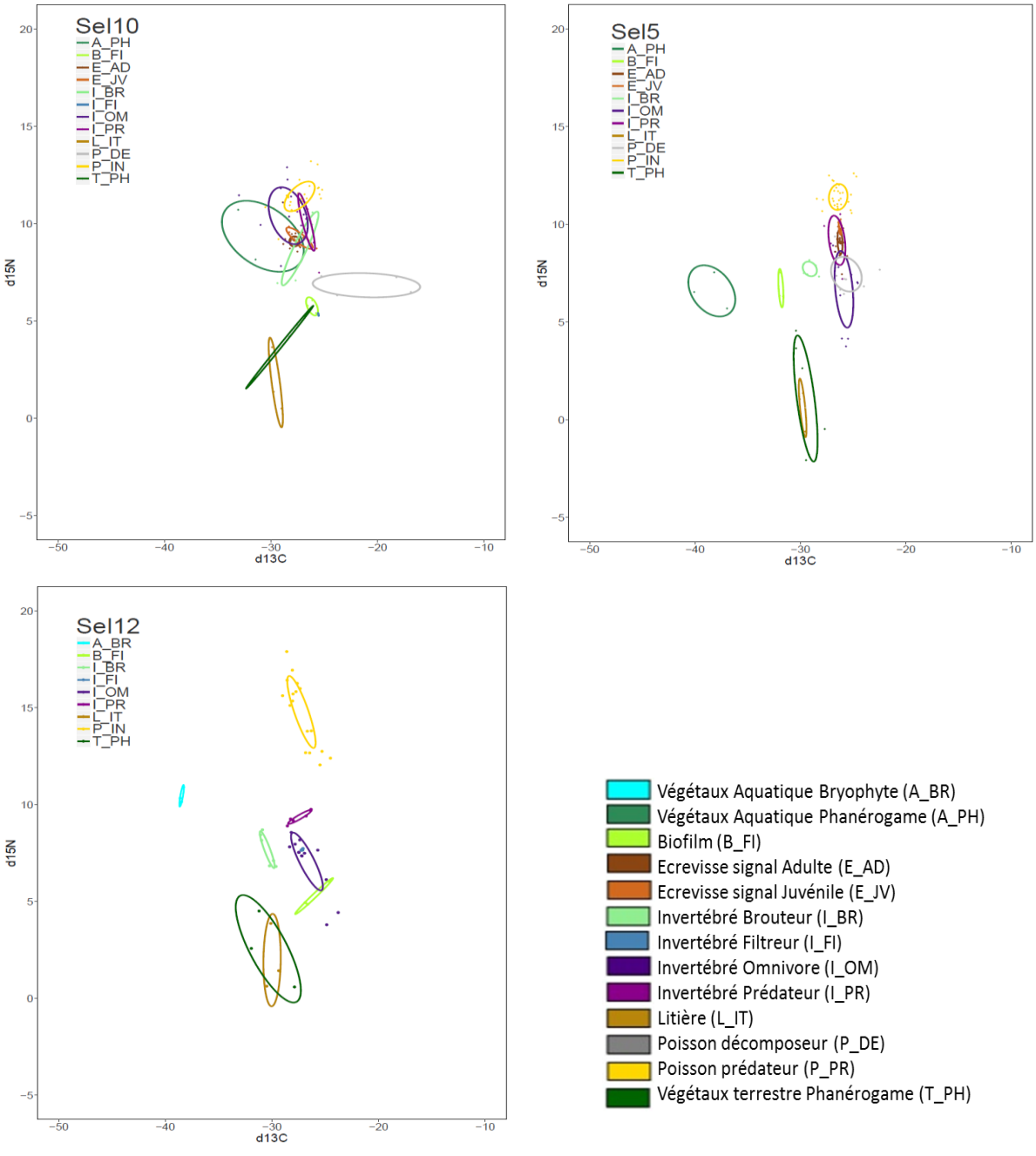


Figure 16. *Résultats des analyses isotopiques (C et N) sur les organismes aquatiques regroupés par types trophiques, pour chaque station du cours principal. L'aire de chaque ellipse représente le cœur de la distribution de chaque groupe (40% de la variance sur le plan bivarié), cette mesure étant robuste 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.*

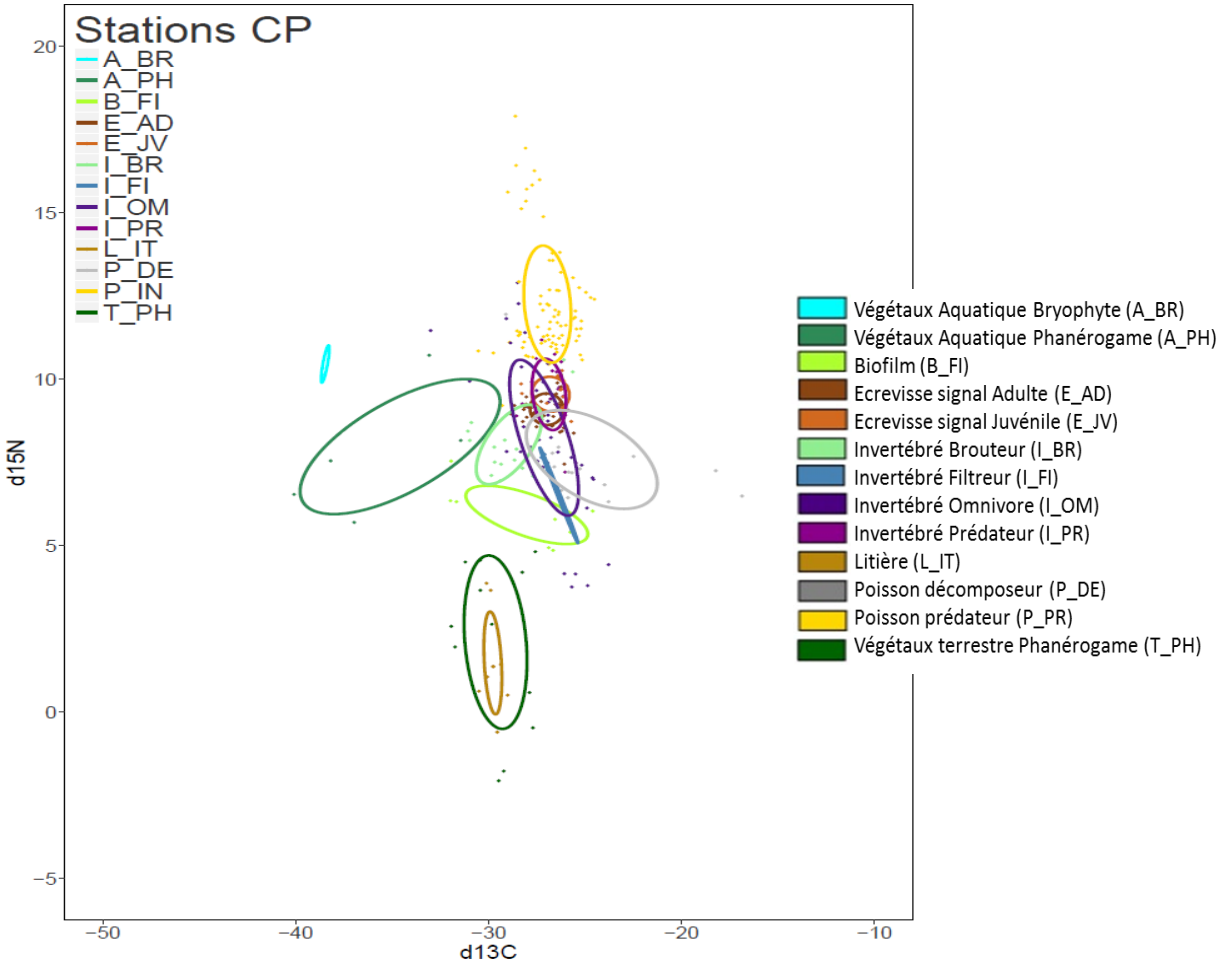


Figure 16bis. *Regroupement des 3 stations du cours principal sur le même graphique (cf Figure 16 pour explications).*

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 tolls 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 minimes, 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*
8 stations pilote sur 5 affluents de la Sélune						
1- Etude des communautés végétales et animales			X		X	
2- Activité photosynthétique	*Initialement pas prévu*		X		X	
3- Dégradation de la matière organique				X	X	
4- Analyse des réseaux trophiques (isotopes stables et barcoding alimentaire), prélèvements			X		X	
Travaux en laboratoire						
Tri et détermination taxonomique			X	X	X report	
Préparation des échantillons pour l'ergostérol		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
Interprétation des résultats			X	X	X	X
Valorisation						

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.

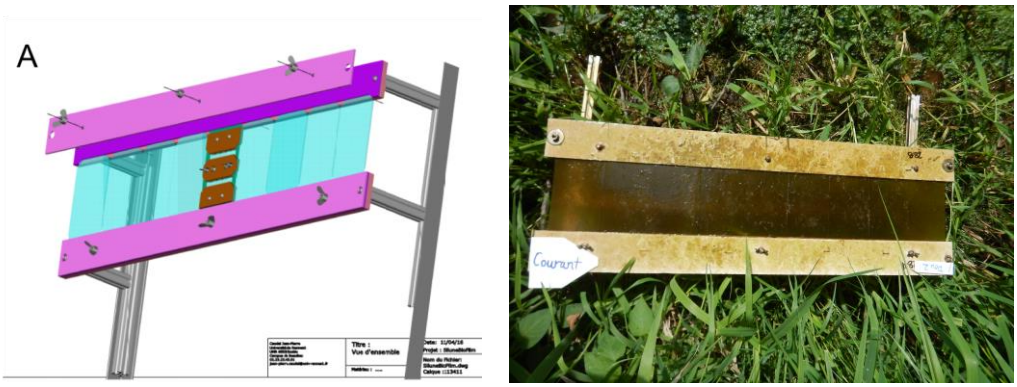


Figure 17. *Système de fixation des lames pour les stations lotiques (à gauche) et lames dans leurs supports après colonisation (à droite).*

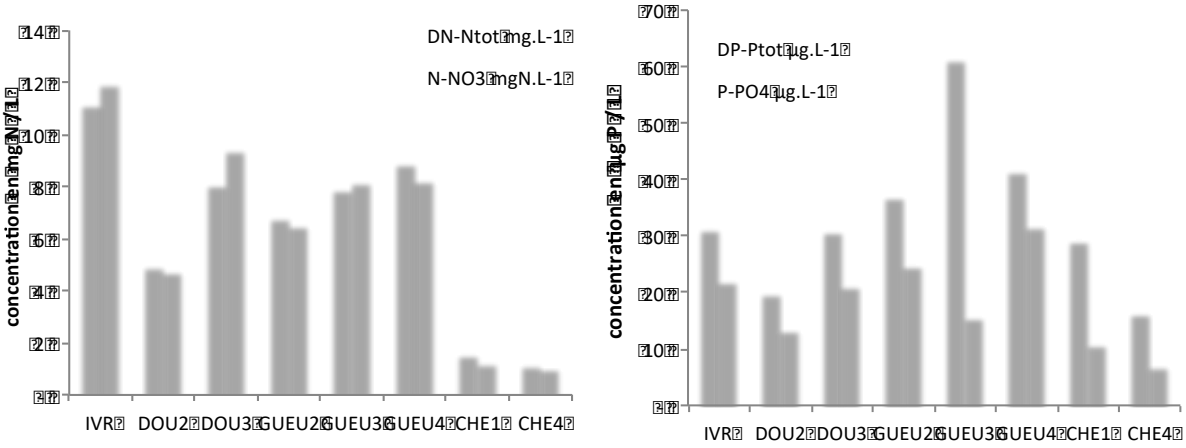


Figure 18. *Concentration en nutriments aux différentes stations : (a) concentration en nitrates et azote total dissous et (b) concentrations en orthophosphates et phosphore total dissous.*

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.

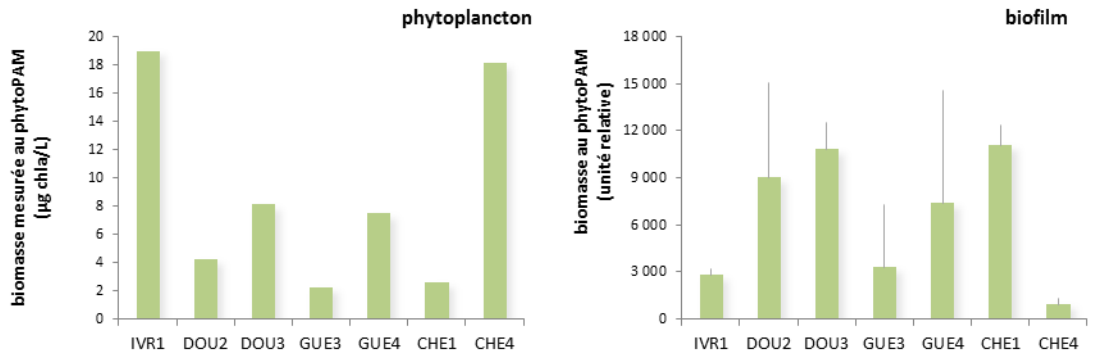


Figure 19. *Biomasses mesurées par le phytoPAM pour le phytoplancton (gauche) et le biofilm (droite) sur les affluents. Les traits verticaux représentent les écarts types autour de chaque moyenne.*

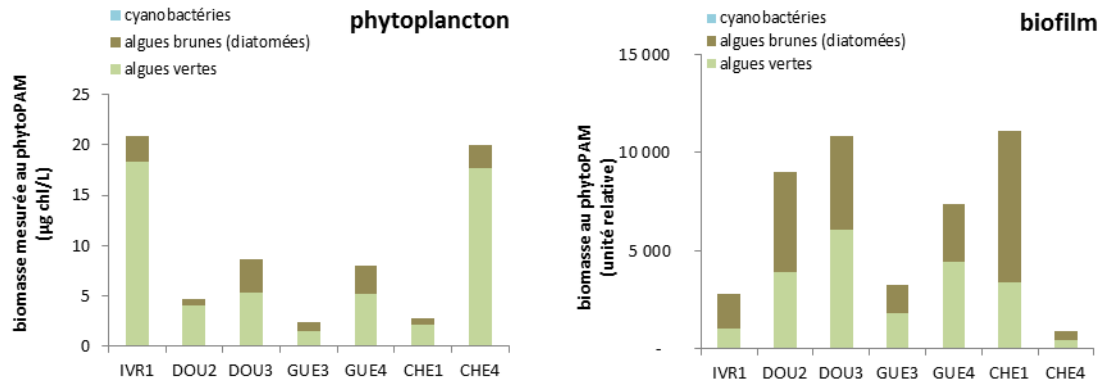


Figure 20. *Biomasses des 3 groupes spectraux mesurées par le phytoPAM pour le phytoplancton (gauche) et le biofilm (droite) sur les affluents.*

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).*

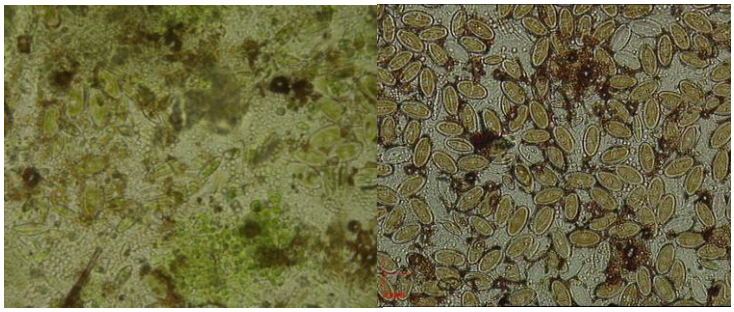


Figure 22. *Vue au microscope d'une des lames incubée sur DOU3, en 2016 (à gauche) et en 2015 (à droite).*

3- **<u>Activité photosynthétique</u>** (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}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).

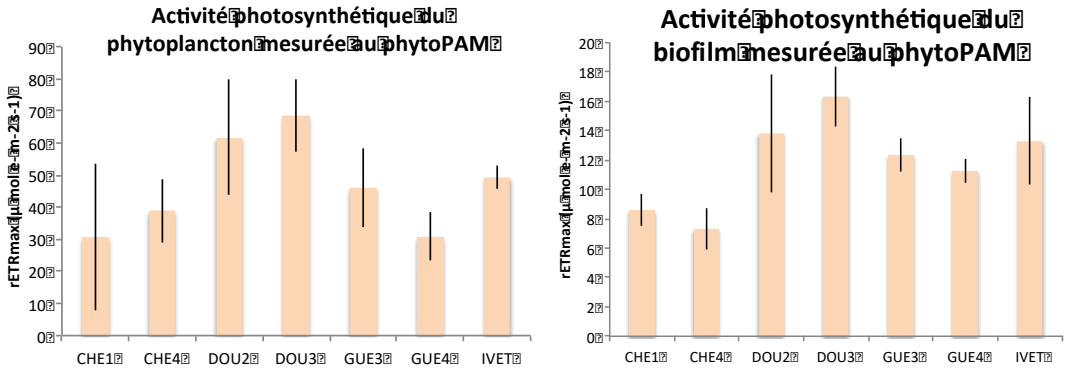


Figure 23. *Activité photosynthétique globale mesurée au phytoPAM pour le phytoplancton (gauche) et le biofilm (droite) sur les stations d'études.*

4- ***<u>Les communautés d'invertébrés aquatiques</u>*** *(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.

	Alnus glutinosa	*Castanea sativa*	*Quercus robur*
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
Phenols (%)	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

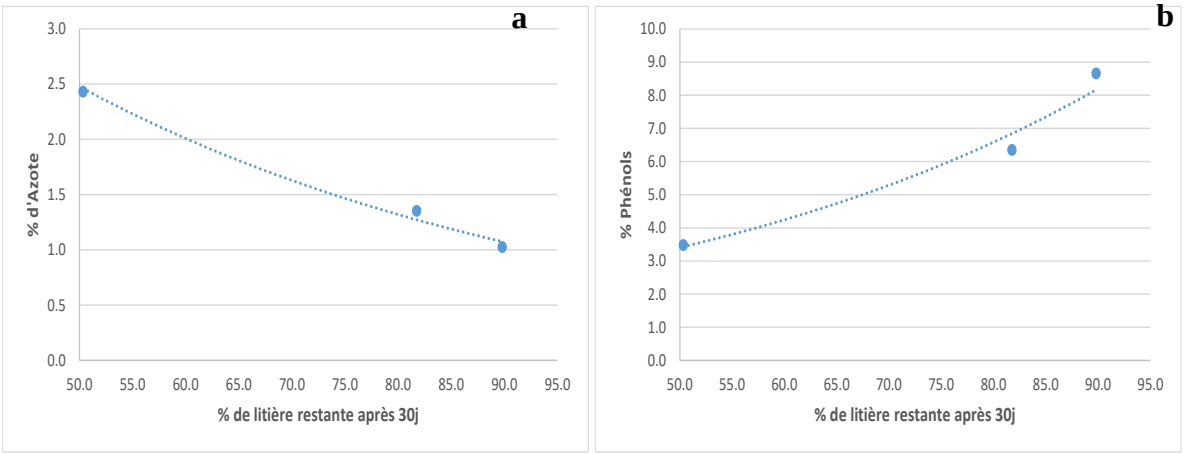


Figure 24. *Relation entre la teneur en azote (a) et phénols (b) des litières et la quantité de litières restantes après 30j d'immersion en rivière.*

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 (µGC 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 écophysiologique 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

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

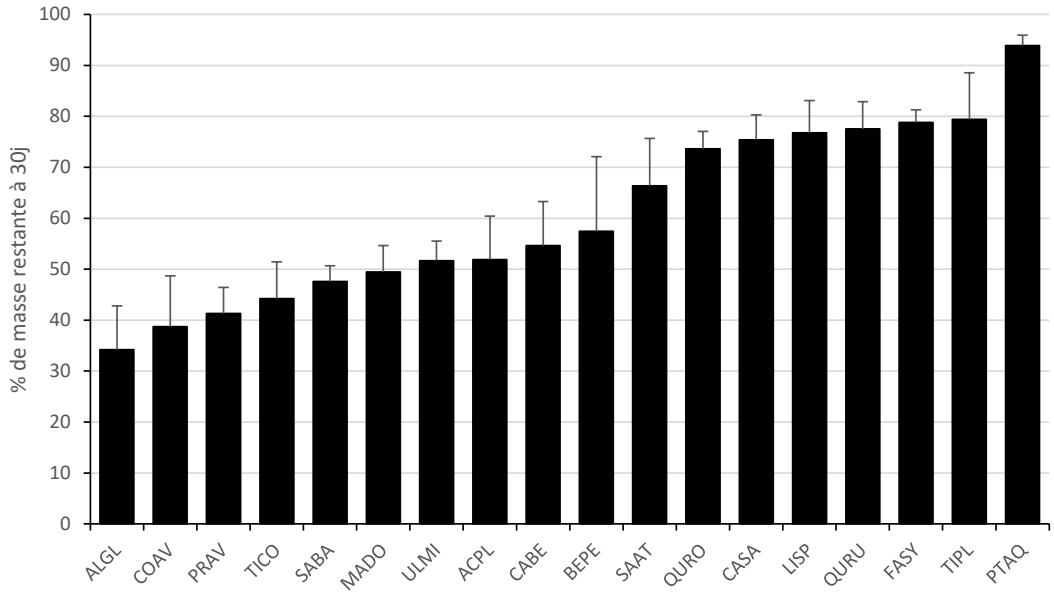


Figure 25. *Pourcentage de masse restante (moyennes ± Ecart-type) dans les sacs après 30j d'immersion dans le ruisseau.*

Comme attendu, les résultats mettent en évidence des différences significatrices 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 ± 5,6 taxons dans la Fougère (PTAQ) à 18,3 ± 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.

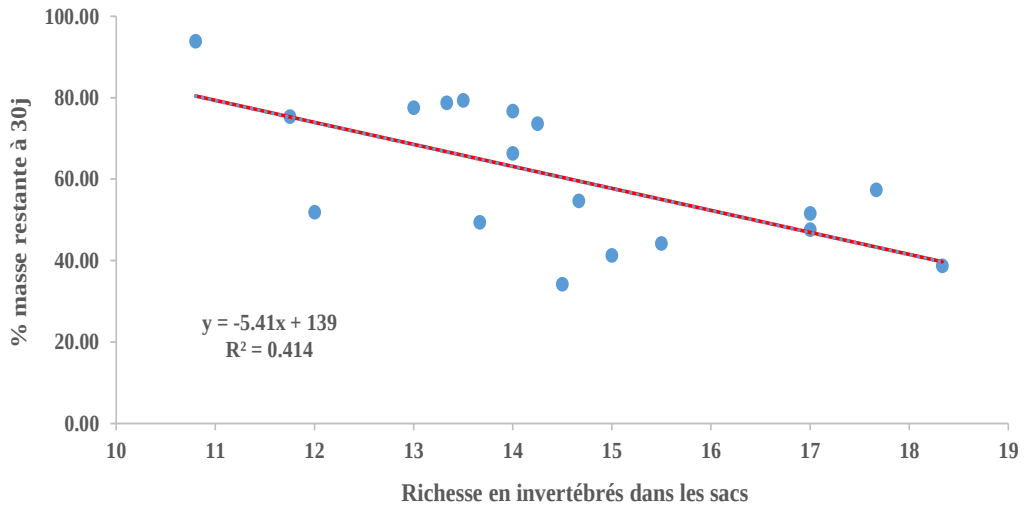


Figure 26 : *Relation entre le pourcentage de masse restante dans les sacs après 30j d'immersion dans le ruisseau et la richesse en invertébrés dans les sacs de litière.*

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.

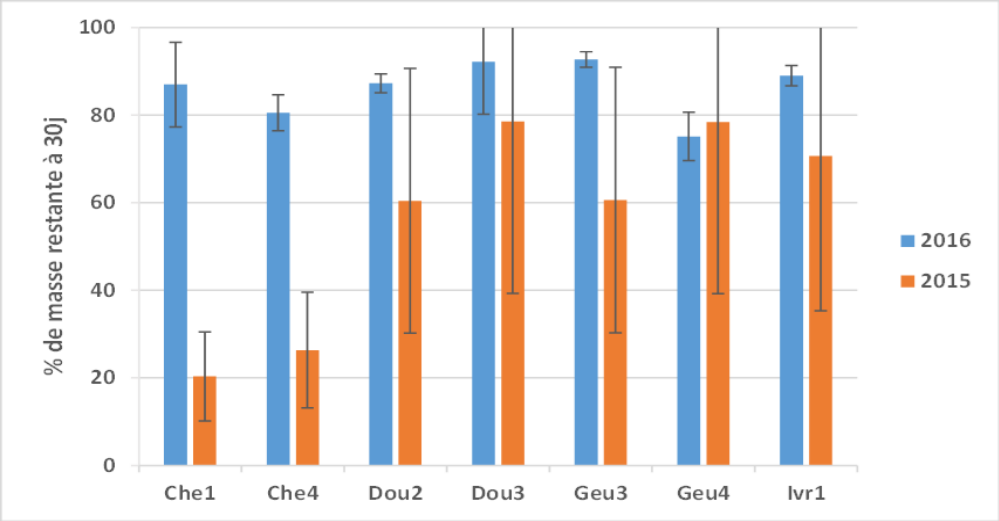


Figure 27 : *Pourcentage de masse restante de litière d'Aulne (moyennes ± Erreur standard) dans les sacs après 30j d'immersion dans les 8 stations des affluents de la Sélune en 2015 et 2016.*

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 pourvoir 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^2. 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.

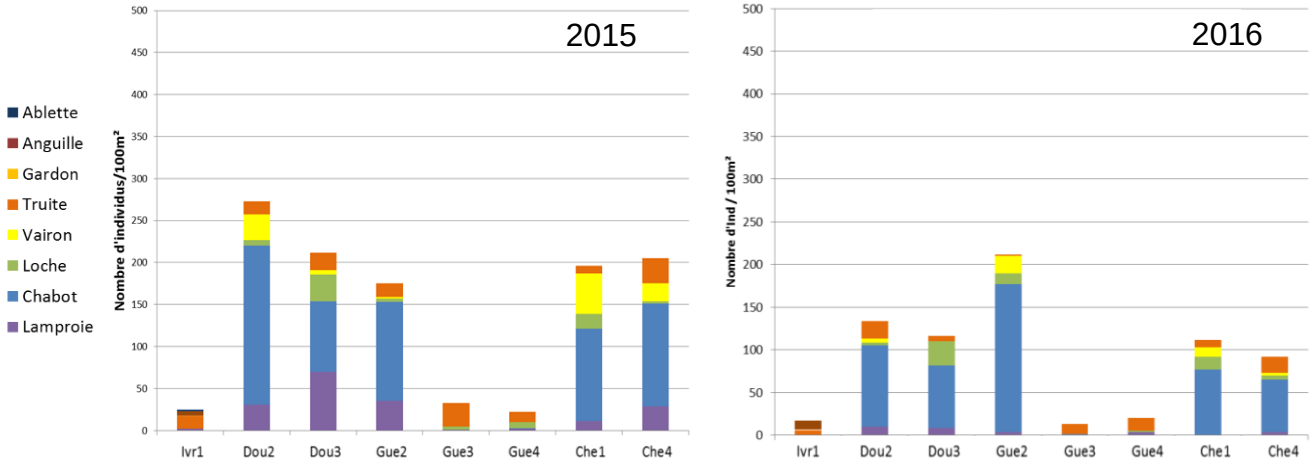


Figure 28. *Densités estimées en 2015 par pêche électrique – méthode des enlèvements successives (graphique de gauche), et abondances pêchées en 2016 par pêche électrique - méthode des points d'abondance (graphique de droite), pour la faune piscicole sur les stations des affluents retenues pour le projet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

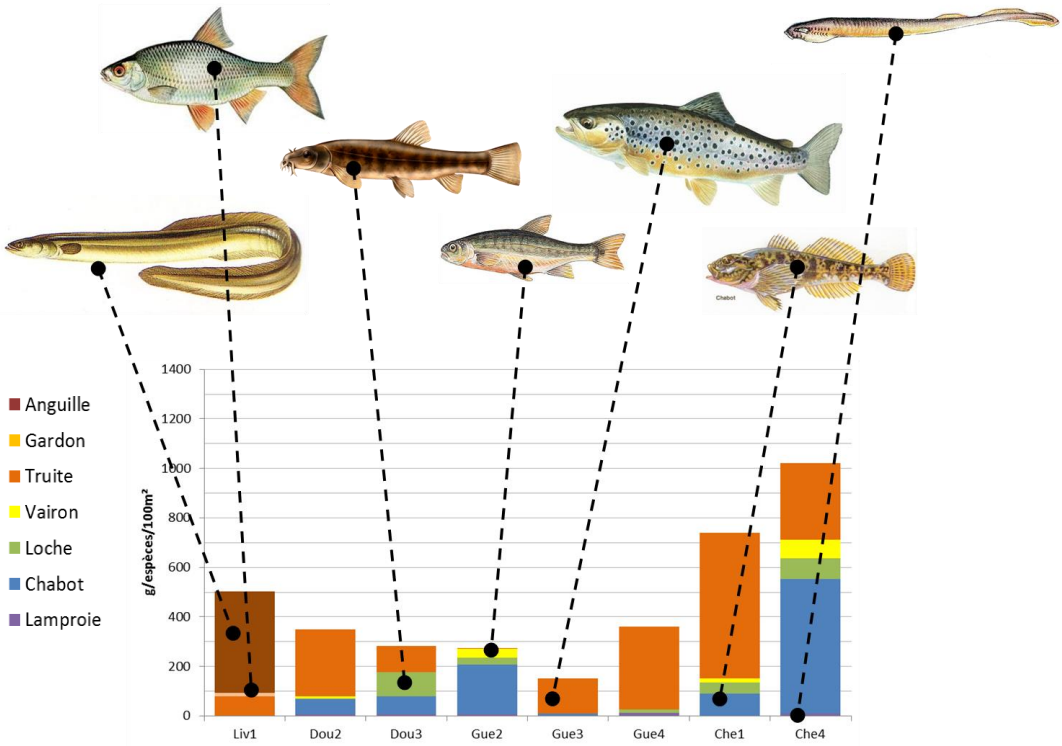


Figure 29. *Variation des biomasses de la faune piscicole sur les 8 stations de référence pour caractériser les réseaux trophiques du cours principal de la Sélune*

8- **<u>Analyse des réseaux trophiques</u>** (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.

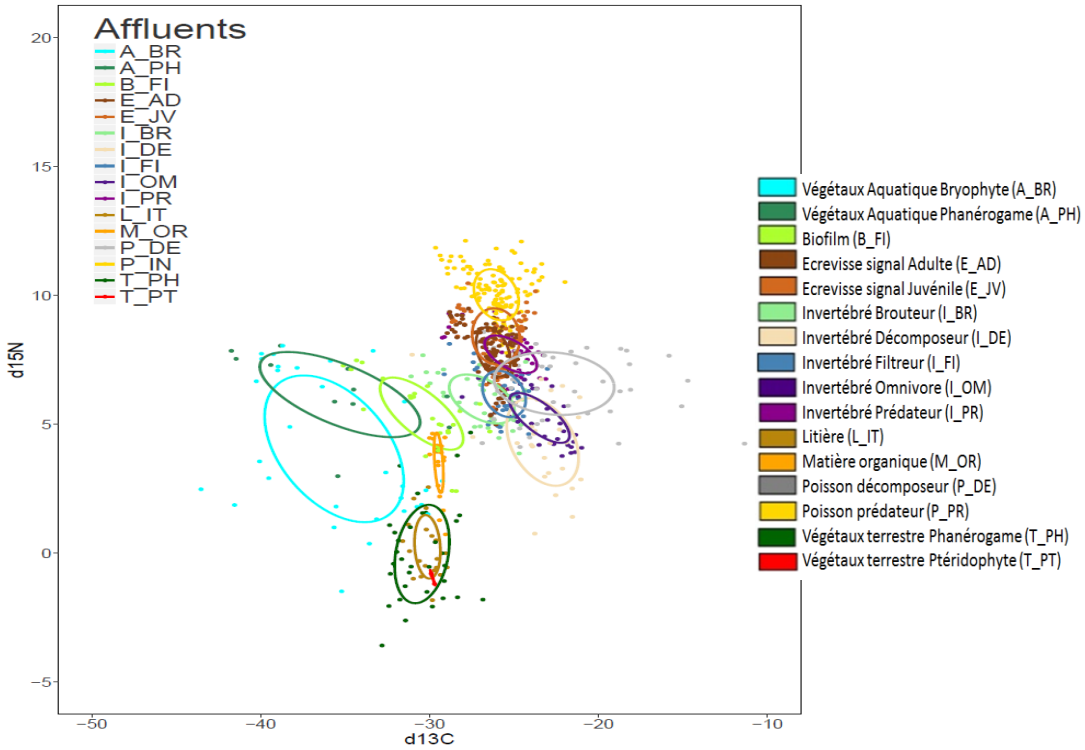


Figure 30. *Résultats des analyses isotopiques (C et N) sur les organismes aquatiques regroupés par types trophiques, pour les 7 stations affluents où l'écrevisse Signal est présente (DOU2, DOU3, GUE2, GUE3 ? GUE4, CHE1, CHE4). L'aire de chaque ellipse représente le cœur de la distribution de chaque 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 déchiqueteurs-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 tolls 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.