

AGENCE DE L'EAU
ADOUR-GARONNE

MISE AU POINT ET APPLICATION D'UN PROTOCOLE D'ÉVALUATION DE L'INTÉGRITÉ FONCTIONNELLE DES ÉCOSYSTÈMES LOTIQUES

Rapport final de projet



Septembre 2015



Université
Paul Sabatier
TOULOUSE III



EcoLab
Laboratoire écologie fonctionnelle
et environnement

Aménagement, environnement
& Développement durable
Hydrobiologie
Hydrogéologie
Systèmes d'information géographique
Milieux littoraux et marins
International et DOM-TOM
Biodiversité et milieux
Recherche & Développement

ASCONIT Consultants
Agence Sud-Ouest
Parc technologique du canal
7 rue Hermès bat A
31520 Ramonville St Agne
Tél. : (33) 05 61 81 08 02 - Fax : (33) 05 34 66 35 67
Email : magali.brosed@asconit.com
Contact: Magali Brosed
Siège social : LYON 69366 Cedex 07
APE 7112B – SIRET 437 960 677 000 98
www.asconit.com

Table des matières

TABLE DES MATIÈRES	1
LISTE DES FIGURES.....	1
LISTE DES TABLEAUX.....	1
INTRODUCTION	2
<i>Rappel des objectifs.....</i>	3
AXE 1 : PROTOCOLE STANDARDISE POUR LA DECOMPOSITION DES LITIÈRES.....	4
<i>Récolte des litières de feuilles</i>	4
<i>Réalisation des unités expérimentales.....</i>	4
<i>Installation et récolte des unités expérimentales.....</i>	5
<i>Traitement en laboratoire</i>	5
AXE 2 : ÉVALUATION DE LA SENSIBILITÉ DE LA DECOMPOSITION FACE À DIVERSES PERTURBATIONS...8	
<i>Réponse de la décomposition en présence d'une contamination par les pesticides.....</i>	8
<i>Réponse de la décomposition aux rejets industriels</i>	15
AXE 3 : COMPARAISON DES INDICES STRUCTURELS ET FONCTIONNELS.....	18
AXE 4 : PROPOSITION D'UN INDICATEUR	21
AXE 5 : RÉALISATION D'UNE BASE DE DONNÉES	26
VALORISATION.....	26
<i>Publications</i>	26
<i>Conférences Internationales.....</i>	26
CONCLUSIONS GÉNÉRALES	27
BIBLIOGRAPHIE.....	28

Liste des figures

<i>Figure 1 : Installation des filets-oiseaux sous les aulnes pour la récolte des feuilles</i>	4
<i>Figure 2 : Photos d'un sac à larges mailles (A) et d'un sac fines mailles (B).....</i>	4
<i>Figure 3 : Exemples de feuilles utilisables (A) et à rejeter (B) lors de la confection des sacs à litière</i>	4
<i>Figure 4 : Installation des unités expérimentales sur la station d'un des tronçons de la Tine</i>	5
<i>Figure 5 : Le modèle exponentiel simple d'Olson ($R = e^{-0,05t}$)</i>	7
<i>Figure 6 : Taux de décomposition des litières total, microbien et invertébré le long du gradient des unités toxiques pour Daphnia magna pour les 12 sites. B : Ratio du taux de décomposition total sur microbien le long du gradient des unités toxiques</i>	12
<i>Figure 7 : Moyenne des taux de décomposition totaux (A) microbiens (B) et invertébrés (C) puis des ratios $k_{invertébré}/k_{microbien}$ (D) en amont et aval de chacun des quatre sites industriels</i>	16
<i>Figure 8 : Fréquence des notes IBGN et IBD pour les stations étudiées</i>	18
<i>Figure 9 : Expression des taux de décomposition moyen total, microbien et invertébré par station selon la note IBGN et IBD obtenue sur le même site</i>	19
<i>Figure 10 : Distribution des scores IBD en fonction des scores IBGN.....</i>	20
<i>Figure 11 : Localisation des 85 sites sur le réseau hydrographique du bassin Adour-Garonne.....</i>	21
<i>Figure 12 : Projection des taux de décomposition invertébré et microbien des 85 sites d'étude sur le graphique de l'indicateur provisoire.....</i>	23
<i>Figure 13 : Localisation des stations sélectionnées pour la problématique pesticides sur le graphique de l'indicateur provisoire</i>	23
<i>Figure 14 : Distribution des taux de décomposition en fonction des notes IBGN (A) et IBD (B) obtenus sur les mêmes sites.....</i>	24

Liste des tableaux

<i>Tableau 1 : Localisation et caractéristiques physico-chimiques de l'eau pour les 12 sites ordonnés selon un gradient de toxicité croissant ($mTU_{D. magna}$).....</i>	10
<i>Tableau 2 : Matrice de corrélation entre les variables réponses, les paramètres de toxicité et la concentration en ammonium en utilisant le coefficient de Pearson (coté gauche) et les p-values associées (coté droit)</i>	14
<i>Tableau 3 : Description des activités industrielles et du type de pollution dus à leur rejet dans le milieu aquatique</i>	15
<i>Tableau 4 : Calcul des rapports $k_{invertébré} : k_{microbien}$ délimitant les classes de qualité</i>	22

Introduction

Les cours d'eau sont parmi les systèmes écologiques les plus impactés par les activités humaines et les adversités subies sont liées aux altérations des caractéristiques physiques, chimiques et biologiques initiales (Vörösmarty *et al.* 2011). Les Schémas Directeurs d'Aménagement et de Gestion des Eaux intégrant les préconisations de la Directive Cadre sur l'Eau (European Commission, 2000) proposent des actions générales destinées à maintenir les services apportés par les milieux aquatiques à la société humaine et à l'environnement. En ce sens, l'évaluation de l'état écologique des milieux lotiques constitue une étape primordiale.

Un écosystème se définit par sa **composante structurale** (structure et composition des communautés aquatiques) et sa **composante fonctionnelle** (ex : efficacité de transfert de matière et d'énergie dans le réseau trophique, efficacité de décomposition des matières organiques mortes) (Gessner & Chauvet, 2002). Le vide méthodologique actuel ne permet pas d'évaluer le bon fonctionnement des processus écologiques des écosystèmes aquatiques, à moins de le déduire de l'analyse des assemblages des biocénoses aquatiques, ce qui est approximatif voire erroné (Covich *et al.*, 2004).

Trois types d'arguments sont en faveur de la prise en compte des processus écologiques dans l'évaluation de l'intégrité des écosystèmes aquatiques (Bunn & Davies, 2002, Gessner & Chauvet, 2002)

- 1) Le rendement des principaux processus écologiques mesure l'intégrité fonctionnelle dans le temps, ces processus impliquant des organismes allant des microorganismes aux vertébrés.
- 2) Les processus ne sont pas dépendants d'un ensemble spécifique d'espèces caractéristiques et présenteraient ainsi un avantage de standardisation entre bassins hydrologiques distincts.
- 3) Les connaissances en taxonomie ne sont pas requises.

Dans le présent travail de recherche, nous nous proposons de **mettre en place un outil d'évaluation de l'intégrité fonctionnelle basée sur la décomposition des litières végétales issues de la ripisylve**, car ce processus a déjà prouvé sa sensibilité à de nombreuses perturbations (Gessner & Chauvet, 2002). Ce processus implique un cortège d'organismes : des bactéries et champignons aux invertébrés (insectes, crustacés tels que gammarés et écrevisses) et le réseau trophique y associe également les vertébrés (poissons et amphibiens), suggérant que les stress anthropiques ont, lors de la décomposition des litières, des cibles et des mécanismes variés (Gessner & Chauvet, 2002).

Rappel des objectifs

L'objectif d'élaboration de l'outil d'évaluation basé sur la décomposition des litières est structuré en quatre axes spécifiques.

Axe 1 : Une application en routine de cet outil implique la mise au point d'un protocole et de sa standardisation. Des expériences permettant d'évaluer la robustesse et la variabilité de la réponse de l'outil décomposition seront mises en place.

Axe 2 : L'outil est testé sur des cours d'eau subissant différentes perturbations dont l'intensité est variable. Les hypothèses de cet axe sont :

- (1) l'outil décomposition est sensible à la fois aux pollutions et aux altérations physiques ;
- (2) la sensibilité de l'outil permet de quantifier le degré de perturbation de l'intégrité fonctionnelle.

Axe 3 : Un tel outil ne présente un intérêt qu'à la condition que l'information qu'il apporte ne soit pas redondante avec celle d'autres indicateurs. On comparera les réponses de l'outil à celles obtenues par les indices biotiques existants. Les hypothèses de cet axe sont :

- (1) la sensibilité de l'outil décomposition aux altérations peut différer de celle des indices structurels, car l'outil décomposition s'adresse à des fonctions qui peuvent être modifiées différemment de la composition des assemblages biologiques ;
- (2) L'outil décomposition améliore ainsi l'indication biologique usuelle en fournissant une indication complémentaire et irremplaçable.

Axe 4 : Proposer un indicateur basé sur les taux de décomposition à partir des stations étudiées et en s'appuyant sur la littérature.

Axe 5 : Une base de données à l'échelle du bassin Adour-Garonne est destinée à l'Agence de l'Eau. Celle-ci regroupe toutes les informations portant à la fois sur les sites d'étude et les paramètres de la décomposition.

AXE 1 : Protocole standardisé pour la décomposition des litières

Récolte des litières de feuilles

Les feuilles d'aulne (*Alnus glutinosa* L. (Gaertn.)) sont récoltées à l'aide de filets-oiseaux de grande dimension (5 × 10 m) maintenus durant l'automne sous les arbres (Figure 1). Les feuilles sont récoltées deux fois par semaine et mises à sécher en fines couches dans une atmosphère sèche d'une vingtaine de degrés et régulièrement brassées pour homogénéiser le séchage avant d'être stockées en carton.



Figure 1 : Installation des filets-oiseaux sous les aulnes pour la récolte des feuilles

Réalisation des unités expérimentales

Chaque unité expérimentale est constituée d'un sac à larges mailles en Polypropylène (dimension de 15× 20 cm avec un vide de maille de 9 mm) et d'un sac à fines mailles en nylon (dimension de 15× 20 cm avec un vide de maille de 0,5 mm). Dans chacun des sacs à larges et fines mailles, 4,00 g (\pm 0,04 g) de feuilles d'aulne sont placées délicatement (Figures 2 et 3). Pour éviter de briser les feuilles lors de l'ensachage, celles-ci sont ramollies dans de l'eau du robinet, pendant 1 heure environ. La masse sèche est précisée en plaçant quelques pesées contrôles à 105 °C pendant 48 h.

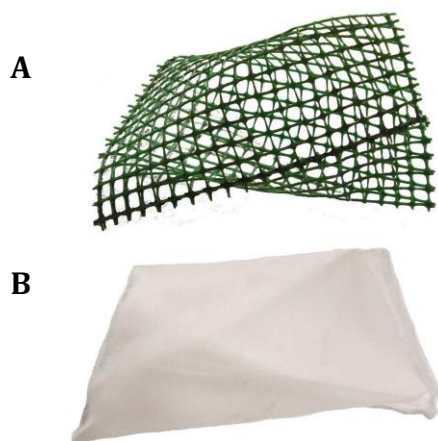


Figure 2 : Photos d'un sac à larges mailles (A) et d'un sac à fines mailles (B)

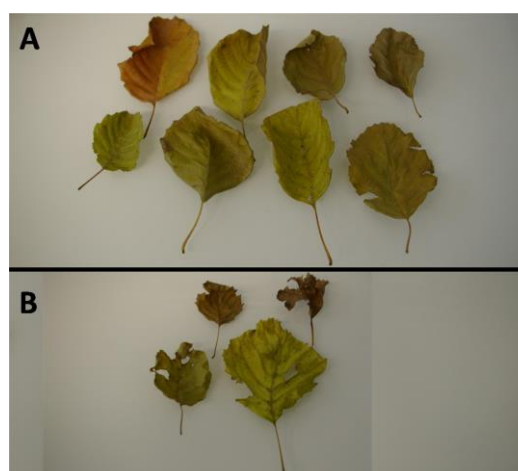


Figure 3 : Exemples de feuilles utilisables (A) et à rejeter (B) lors de la confection des sacs à litière

Installation et récolte des unités expérimentales

Dans chaque rivière, six unités expérimentales sont installées pendant la période hivernale, chacune à l'aide d'une barre de fer rond torsadé (longueur ≤ 1 m, diamètre 1 cm) fixée dans le lit du cours d'eau et d'une pierre lestant les sacs afin de garantir leur immersion totale. Les six unités expérimentales sont placées à une distance > 5 m les unes des autres en sélectionnant des conditions comparables d'exposition (de profondeur, de substrat et de vitesse de courant) dans les zones de radier lorsque cela est possible (Figure 4).



Figure 4 : Installation des unités expérimentales sur la station d'un des tronçons de la Tine.

Après 21 jours d'exposition, les sacs sont retirés précautionneusement pour limiter la perte d'invertébrés et placés dans des sacs (de type zip-lock) dans une glacière à température de la rivière entre le moment de la récolte et le traitement au laboratoire, ce dernier s'effectuant dans la même journée.

Des données physicochimiques sont mesurées sur le terrain à l'installation et à la récolte (pH, conductivité, oxygène dissous, saturation en oxygène et débit estimé). La température de l'eau est continuellement mesurée dans chacune des rivières à l'aide d'enregistreurs miniatures autonomes.

Traitement en laboratoire

Sacs à fines mailles

Les litières de feuilles des sacs à fines mailles sont délicatement nettoyées sous un filet d'eau du robinet pour retirer les particules de sédiment fin et les résidus de feuilles de taille supérieure à 0,5 mm sont retenus à l'aide d'un tamis à 0,5 mm de vide de maille. Dix disques (15 mm de diamètre)

sont découpés à l'aide d'un emporte-pièce dans les feuilles en évitant la nervure principale. Cinq disques sont employés directement pour la détermination de l'activité de sporulation et les cinq restants sont conservés à -20 °C pour une estimation ultérieure de la biomasse fongique associée. Le restant est mis à sécher à l'étuve à 105 °C jusqu'à masse constante.

Sacs à larges mailles

Les litières de feuilles des sacs à larges mailles sont délicatement nettoyées sous un filet d'eau du robinet pour retirer les particules de sédiment. Les résidus de feuilles de taille supérieure à 0,5 mm ainsi que les invertébrés sont retenus à l'aide d'un tamis à 0,5 mm de vide de maille. Les invertébrés sont conservés dans l'éthanol à 70% jusqu'à identification au niveau de la famille et l'attribution à un groupe fonctionnel à l'aide de la clé de Tachet *et al.* (2010). Les feuilles et débris de feuilles de grande taille sont mis à sécher à l'étuve à 105 °C jusqu'à masse constante.

Estimation de la masse sèche (MS)

Les échantillons des sacs fines et larges mailles sont ensuite mis à sécher à 105 °C jusqu'à masse constante qui est déterminée avec une précision de 0,01g.

Estimation de la masse sèche sans cendre (MSSC)

Les échantillons secs sont broyés puis séchés à l'étuve à 105 °C pendant 48 heures. Un aliquote de 500,0 mg (\pm 50,0 mg) séché à l'étuve à 105 °C pendant 48 h est passé au four à moufle à 550 °C pendant 3 h, puis pesé après la perte au feu avec une précision de 0,1 mg.

Estimation de l'activité de sporulation

Pour chaque échantillon, la sporulation est induite à partir de 5 disques introduits dans un Erlenmeyer de 100 ml en verre avec 20 ml d'eau filtrée de rivière (Whatman GF/F, 1,2 μ m de taille de pore) soumis à une douce agitation circulaire sur un shaker orbital (75 rpm) et à l'obscurité et à 12° C. Après 48h, la suspension de spores est transférée dans un tube en polyéthylène et l'activité de sporulation est stoppée en ajoutant 3 ml de formaldéhyde et 20 ml d'eau distillée (Gessner *et al.* 2003) et les disques sont séchés à 105 °C pendant 48 h puis pesés à 0,1 mg près.

Au moment d'évaluer le taux de sporulation, un aliquote de la suspension de spores est filtrée (Millipore SMWP, 5 μ m) et teint avec 0.05 % (masse/vol) de bleu Trypan dans 60 % d'une solution d'acide lactique. En utilisant les clés d'identification de Chauvet (1990) et Gulis *et al.* (2005), 200 spores au minimum sont identifiées et dénombrées sous microscope entre \times 100 et \times 400 (Gessner *et al.* 2007). La production de spores est calculée comme le nombre de spores libérées par unité de masse exprimé en fonction de la durée d'exposition (exprimée en jour ou en degré-jour).

Estimation de la biomasse fongique

Les disques congelés sont utilisés pour déterminer le contenu en ergostérol - un marqueur membranaire lipidique propre au règne des « vrais » champignons - par lequel est déduite la biomasse fongique. La quantification est réalisée par chromatographie à haute performance en phase liquide (Gessner 2005). On considère que la biomasse fongique sèche contient 5,5 mg d'ergostérol par gramme de litière (Gessner & Chauvet 1993).

Calcul des taux de décomposition

Le taux de décomposition est défini comme la constante d'un modèle qui décrit la proportion de masse de litière végétale restante en fonction du temps de résidence dans le cours d'eau (Wieder & Lang 1982). Le taux de décomposition est calculé en utilisant le modèle simple d'Olson (1963 ; Figure 5). Avec k , le taux de décomposition, t , le temps exprimé en jours ou en degré-jour et R , correspondant à la proportion de masse restante.

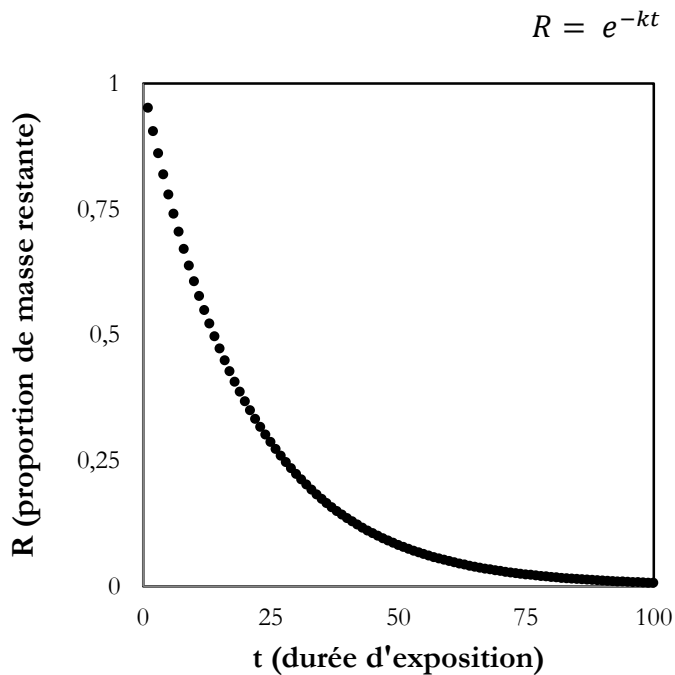


Figure 5: Le modèle exponentiel simple d'Olson ($R = e^{-0,05t}$)

La proportion de masse restante R est calculée comme le rapport $MS_f : MS_0$ avec MS_0 , la masse sèche initiale de litière au moment de l'introduction des sacs dans le cours d'eau après correction de l'humidité résiduelle des feuilles et de la perte de masse potentielle durant les manipulations. Le même calcul de proportion est utilisé avec les masses sèches sans cendre.

Le taux de décomposition k est calculé comme la moyenne du taux de décomposition k_i de chaque sac récolté par site :

$$k = \frac{\sum k_i}{n}$$

et

$$k_i = \frac{-\ln(R_i)}{t}$$

avec n , le nombre de sacs prélevés, R_i , la proportion de masse restante dans le sac i et t , la durée d'exposition.

Comme il a été mis en évidence que la température influence la vitesse de décomposition, on utilise également les degré-jours (D_j) pour calculer le taux de décomposition

$$D_j = t \times \text{température moyenne}_{\text{eau}}$$

La température moyenne de l'eau est calculée en tenant compte de la température enregistrée toutes les 5 minutes durant toute la durée de l'exposition.

AXE 2 : Evaluation de la sensibilité de la décomposition face à diverses perturbations

Réponse de la décomposition en présence d'une contamination par les pesticides

Introduction

Les rivières en milieu agricole sont impactées par des perturbations physiques (*ex* : coupe de la ripisylve, linéarisation) et chimiques (*ex* : eutrophisation accélérée). La contamination par les pesticides est une perturbation supplémentaire qui affecte directement les communautés aquatiques et les processus réalisés par celles-ci et que les indicateurs structurels classiques ne mettent pas en évidence (Beketov *et al.* 2009). Un indicateur spécifique aux invertébrés aquatiques, SPEAR_{pesticide}, a été mis au point (Liess & Von der Ohe 2005) en se basant sur quelques traits fonctionnels sensibles à la contamination par les pesticides (la sensibilité des taxons aux pesticides, le temps de génération la capacité de dispersion et la durée des stades de vie en dehors du milieu aquatique).

L'objectif de cette étude est d'observer les effets d'un gradient de contamination en pesticides sur le processus de décomposition des litières de feuille et de comparer la réponse à celle obtenue avec l'indicateur spécifique SPEAR_{pesticide}.

Nos hypothèses de travail sont :

- le taux de décomposition total est affecté par la contamination aux pesticides
- le taux de décomposition par les décomposeurs invertébrés est plus affecté que celui relatif à l'activité des décomposeurs microbiens.
- l'abondance et l'activité des décomposeurs invertébrés et microbiens sont similairement affectées par la toxicité des pesticides

Matériel & méthodes

- Sélection des sites

Les sites sélectionnés font partie de l'hydroécocorégion des Coteaux Aquitains, où les cours d'eau sont relativement homogènes en terme de substrat géologique (matériaux détritiques), de topographie (faible altitude) et de climat (méditerranéen à influence océanique). L'occupation des sols est dominée par l'agriculture. Les 12 rivières sont permanentes, d'ordre de Strahler compris entre 2 à 4 et régulièrement évaluées par l'AEAG pour les pesticides.

- Analyses physique et chimique de l'eau

Exceptée la température, les caractéristiques physicochimiques proviennent de la base de données de l'AEAG à partir de prélèvements réalisés entre mars 2012 et mars 2013 (Tableau 1), notamment au printemps 2012 lorsque la concentration en pesticides est la plus élevée dans les rivières. Parmi les 139 pesticides surveillés, 30 ont été détectés sur la période, dont 16 herbicides, 12 fongicides, et 2 insecticides. Sur cette période, les prélèvements réalisés ont permis de détecter une concentration totale en pesticides allant de 0 à 31.11 µg.L⁻¹.

La toxicité des pesticides a été déterminée pour chacun des sites comme étant l'unité toxique maximale (mTU) déterminée sur l'ensemble des pesticides et l'ensemble de la période, selon la formule suivante :

$$mTU = \text{Ln} \left[\max_{i=1}^n \left(\frac{c_{i \max}}{EC50_i} \right) \right]$$

où $c_{i \max}$ est la concentration maximale du pesticide i au cours de la période, $EC50_i$ est la concentration pour laquelle un effet aigu est observé entre 48 et 96 h pour l'espèce standard considérée et n le nombre de pesticides pour le site considéré (Backhaus & Faust 2012, dans le matériel supplémentaire).

La toxicité des pesticides a été également exprimée par le logarithme de la somme des unités toxiques maximales déterminées pour chacun des pesticides i , nommé sTU , selon la formule suivante :

$$sTU = \text{Ln} \sum_{i=1}^n \frac{c_i \text{ max}}{EC50_i}$$

Les espèces standards ont été sélectionnées selon les types d'organismes impliqués dans le processus étudié, à savoir *Daphnia magna* ($TU_{D.magna}$) pour les décomposeurs invertébrés et diverses algues pour les décomposeurs microbiens (TU_{alga}) (ex. Schäfer *et al.* 2012). Les valeurs de CE50 sont disponibles sur le site de l'University of Hertfordshire.

- La décomposition des litières

Voir le protocole présenté dans la partie « AXE 1 ».

- Analyse des données

Les résultats de la décomposition des litières, soit les taux de décomposition et les réponses des décomposeurs invertébrés et microbiens, sont comparés à la réponse obtenue au travers l'indice $SPEAR_{\text{pesticide}}$. Le calcul de l'abondance d'espèces à risque vis-à-vis des contaminations chroniques par les pesticides ($SPEAR_{\text{pesticide}}$) a été calculé via le calculateur disponible gratuitement sur le web (<http://www.systemecology.eu/spear>).

Une matrice de corrélation de Pearson est utilisée pour tester les possibles corrélations entre les taux de décomposition, les réponses des décomposeurs invertébrés et microbiens, l'indice $SPEAR_{\text{pesticide}}$ et les expressions de contamination par les pesticides (mTU et sTU pour *Daphnia magna* et les algues). Les corrélations ont été réalisées avec le logiciel statistique R en libre accès (version 3.1.3). Les résultats sont considérés significatifs lorsque la valeur de P -value est inférieure à 0.05.

Tableau 1 : Localisation et caractéristiques physico-chimiques de l'eau pour les 12 sites ordonnés selon un gradient de toxicité croissant (mTU_{D. magna}). S1 : Boulouze, S2 : Agros, S3 : Gimone, S4 : Tescou, S5 : Orbe, S6 : Touch, S7 : Sausse, S8 : Petit Midour, S9 : Girou, S10 : Bergon, S11 : Ayroux, and S12: Rieu-Tort. Les substrats dominants sont A : argile, Sa : sable, G : graviers, M : vase, C : cailloux, Li : limons et B : blocs. Les températures sont les moyennes calculées de mars 2012 à mars 2013, exceptée la température de l'eau qui a été mesurée durant les 21 jours d'exposition.

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12
Longitude	43°34'29	43°46'19	43°17'32	43°54'52	43°47'34	43°23'02	43°38'48	43°41'53	43°33'57	43°39'04	44°02'40	43°55'26
Latitude	01°02'18	02°00'02	00°37'51	01°45'59	00°49'03	01°10'25	01°29'02	00°02'40	01°52'55	-00°07'23	00°58'10	01°21'46
Ordre de Strahler	3	3	2	3	3	4	4	4	4	4	3	4
Altitude (m)	149	157	283	185	159	213	137	108	192	133	105	89
Substrats	A, Sa	G, V, C	A G, C	Li	G	G, B, Sa	G, C, Li	A, G, Sa	B, A, C, Sa	C	G, C	A, B
Température (°C)	8.10	7.60	6.47	5.66	7.99	7.67	7.09	7.46	7.34	7.86	7.10	6.19
pH	8.2 (7.8-8.4)	8.1 (7.9-8.3)	7.9 (7.2-8.7)	7.8 (7.7-7.9)	8.3 (7.8-8.7)	8.0 (7.7-8.4)	7.8 (7.0-8.5)	8.1 (7.8-8.6)	7.8 (7.4-8.0)	7.9 (7.2-8.5)	7.9 (7.35-8.4)	7.9 (7.6-8.3)
Conductivité (µS.cm ⁻¹)	523 (79-782)	681 (628-719)	175 (134-227)	577 (534-621)	799 (735-861)	439 (285-685)	609 (285-826)	573 (467-641)	632 (114-803)	485 (301-588)	697 (442-853)	926 (659-1126)
[O ₂] (mg.l ⁻¹)	8.6 (4.5-13.7)	11.4 (9.1-13.0)	10.4 (7.5-12.2)	9.0 (5.3-12.6)	8.2 (5.5-11.9)	9.9 (6.1-14.1)	7.8 (3.9-11.8)	6.7 (0.8-8.9)	8.9 (7.6-11.1)	8.8 (4.8-13.2)	8.9 (4.9-13.1)	8.8 (5.4-11.2)
[N-NO ₃] (mg.l ⁻¹)	1.05 (0.41-1.72)	9.70 (6.5-14.45)	0.81 (0.23-2.71)	1.47 (0.11-5.13)	8.76 (1.6-15.47)	1.72 (0.45-5.87)	2.53 (0.68-5.42)	2.47 (0.23-5.04)	3.63 (0.63-10.55)	5.42 (2.71-7.68)	2.61 (0.83-5.69)	2.76 (1.13-4.06)
[N-NO ₂] (mg.l ⁻¹)	0.02 (0.02-0.04)	0.03 (0.02-0.05)	<0.01 (<0.01-0.01)	<0.01 (<0.01-0.02)	0.02 (0.02-0.03)	0.02 (<0.01-0.03)	0.14 (0.05-0.22)	0.07 (0.02-0.17)	0.05 (<0.01-0.12)	0.03 (0.01-0.06)	0.02 (<0.01-0.06)	0.02 (<0.01-0.04)
[N-NH ₄] (mg.l ⁻¹)	0.07 (0.04-0.12)	0.03 (0.02-0.04)	0.04 (0.04-0.04)	0.03 (<0.01-0.05)	0.03 (<0.01-0.04)	0.10 (0.04-0.32)	0.93 (0.20-3.27)	0.24 (0.04-1.09)	0.09 (<0.01-0.3)	0.07 (0.02-0.22)	0.04 (0.04-0.04)	0.10 (0.04-0.16)
[P-PO ₄] (mg.l ⁻¹)	0.03 (0.03-0.04)	0.02 (<0.01-0.04)	0.02 (0.02-0.02)	0.02 (<0.01-0.03)	0.03 (<0.01-0.04)	0.03 (0.02-0.05)	0.77 (0.05-1.27)	0.05 (0.03-0.08)	0.09 (<0.01-0.16)	0.05 (0.02-0.14)	0.05 (0.03-0.1)	0.27 (0.23-0.33)
mTU _{D.magna}	-5.60	-5.05	-4.84	-4.77	-4.64	-3.92	-3.54	-3.33	-3.14	-2.80	-2.48	-1.81
sTU _{D.magna}	-5.20	-4.83	-4.46	-4.44	-4.49	-3.72	-2.95	-3.19	-3.06	-2.50	-2.30	-1.74
mTU _{algea}	-3.66	-4.89	-0.43	-2.14	-3.68	-0.53	-0.76	0.15	-1.75	0.65	0.80	-0.66
sTU _{algea}	-3.59	-4.82	-0.43	-2.14	-3.52	-0.51	-0.33	0.18	-1.32	0.65	0.81	-0.48
SPEAR _{pesticide} (Nb individus.g ⁻¹)	56.24	44.50	47.14	53.88	45.38	37.99	30.35	21.56	22.34	54.02	16.82	7.52
MSCC												

Résultats

- Pesticides

Les herbicides acétochlore (chloracétamide), isoproturon (urée) et diuron (phénylurée) sont les composés responsables des valeurs élevées de mTU_{alga} . Tandis que l'insecticide carbaryl (carbamate) suivi de l'herbicide isoproturon sont les principaux contributeurs aux valeurs élevées de $mTU_{D.magna}$. La contamination par les pesticides a une distribution plus grande pour les algues (mTU_{alga} : -4,89 à 0,80) que pour *Daphnia magna* ($mTU_{D.magna}$: -5,60 à -1,81). Dans les 12 cours d'eau, mTU_{alga} est systématiquement plus élevé que $mTU_{D.magna}$, le site de la Gimone ayant le plus grand écart (respectivement 0,43 et -4,84). Les valeurs des unités toxiques sommées (sTU) sont très similaires aux mTU pour les algues et *Daphnia*.

- Taux de décomposition

La perte de masse de litière d'aulne après 21 jours d'exposition a été de 34 à 57 % dans les sacs à grosses mailles et de 29 à 40 % dans les sacs à fines mailles. Les taux de décomposition totaux sont compris entre $0.0198 \pm 0.0031 \text{ jour}^{-1}$ (Rieu-Tort) et $0.0413 \pm 0.0131 \text{ jour}^{-1}$ (Boulouze, Figure 6). Les taux de décomposition microbiens se distribuent entre $0.0163 \pm 0.0013 \text{ jour}^{-1}$ (Agros) et $0.0247 \pm 0.0055 \text{ jour}^{-1}$ (Girou). On en déduit que les taux de décomposition dus à la seule activité des invertébrés sont compris entre $0.0009 \pm 0.0010 \text{ jour}^{-1}$ (Rieu-Tort) et $0.0144 \pm 0.0061 \text{ jour}^{-1}$ (Agros).

Les taux de décomposition totaux et invertébrés sont négativement corrélés de façon significative à la pollution par les pesticides (Figure 2 A) :

$$k_{\text{total}} = -0,0051 mTU_{D.magna} + 0,0051, P < 0,0001, r^2 = 0,25$$

$$k_{\text{invertébré}} = -0,0031 mTU_{D.magna} - 0,0032, P < 0,0001, r^2 = 0,31$$

Les taux de décomposition microbiens ne semblent pas affectés par la pollution due aux pesticides ($P > 0,05$). Enfin, le ratio des taux de décomposition totale sur microbien répond sensiblement à la pollution par les pesticides (Figure 2 B) avec :

$$k_{\text{total}}/k_{\text{microbien}} = -0,2709 mTU_{D.magna} + 0,5204, P < 0,0001, r^2 = 0,30$$

- Décomposeurs associés aux litières

Décomposeurs microbiens

La biomasse fongique associée à la litière est comprise entre 54 (Tescou) et 164 mg.g^{-1} de MSSC (masse sèche sans cendre) de feuille (Gimone). La production de spores des hyphomycètes aquatiques au 21^{ème} jour d'exposition varie entre 0,32 (Agros) et 2,99 $\text{jour}^{-1}.\mu\text{g}^{-1}$ MSSC (Sausse). Tandis que la richesse taxonomique des spores d'hyphomycètes aquatiques est d'environ 12 espèces par site (rang (9 à 16)), quatre espèces sont retrouvées dans tous les sites (*Alatospora acuminata* (ALAC), *Flagellospora curvula* (FLCU), *Tetracladium marchalianum* (TEMA) and *Lemonnieria aquatica* (LEAQ)). Trois de ces espèces dominent la production de conidies avec une abondance relative de 38,5 % pour ALAC (7,5 à 82,3 %), 27,4 % pour FLCU (0,7 à 63,3 %) et 18,6 % pour TEMA (1,3 à 49,1 %).

Décomposeurs invertébrés

En moyenne, une abondance de 69,1 individus. g^{-1} MSSC foliaire a été mesurée, avec des valeurs allant de 22,3 individus. g^{-1} pour l'Ayroux à 146,7 individus. g^{-1} pour le Boulouze. La richesse taxonomique moyenne au niveau de la famille est de 15 taxa, allant de 8 à 26 taxa, déterminés respectivement pour le Rieu-Tort et la Gimone. Les taxa appartiennent à cinq classes (*Arachnides*, *Clitellates*, *Insectes*, *Gastéropodes* et *Malacostracés*) et les larves d'insectes dominent la faune retrouvée dans les sacs de litière. La famille *Chironomidae* est la plus abondante avec en moyenne 57,8 % de la faune totale observée, allant de 17,9 % pour la Gimone à 85,1 % pour le Rieu-Tort). La famille

Baetidae est le seul autre taxa observé dans les sacs de tous les sites, avec une plus faible contribution à l'abondance totale (4,3 %) allant de 0,8 % pour la Gimone à 17,0 % pour l'Agros. L'abondance moyenne des décomposeurs est de 17,9 individus.g⁻¹ MSSC foliaire avec un minimum de 1,4 % observée pour le Rieu-Tort et le maximum de 79,4 % observé pour le Boulouze. En moyenne la contribution des décomposeurs est de 21 % des invertébrés totaux (respectivement de 5,7 à 53,8 % pour le Rieu-Tort et le Boulouze). Les décomposeurs dominent la faune retrouvée dans les sacs uniquement pour le Boulouze, avec les larves de *Nemouridae* comptant pour 47,3 % de la population totale d'invertébrés.

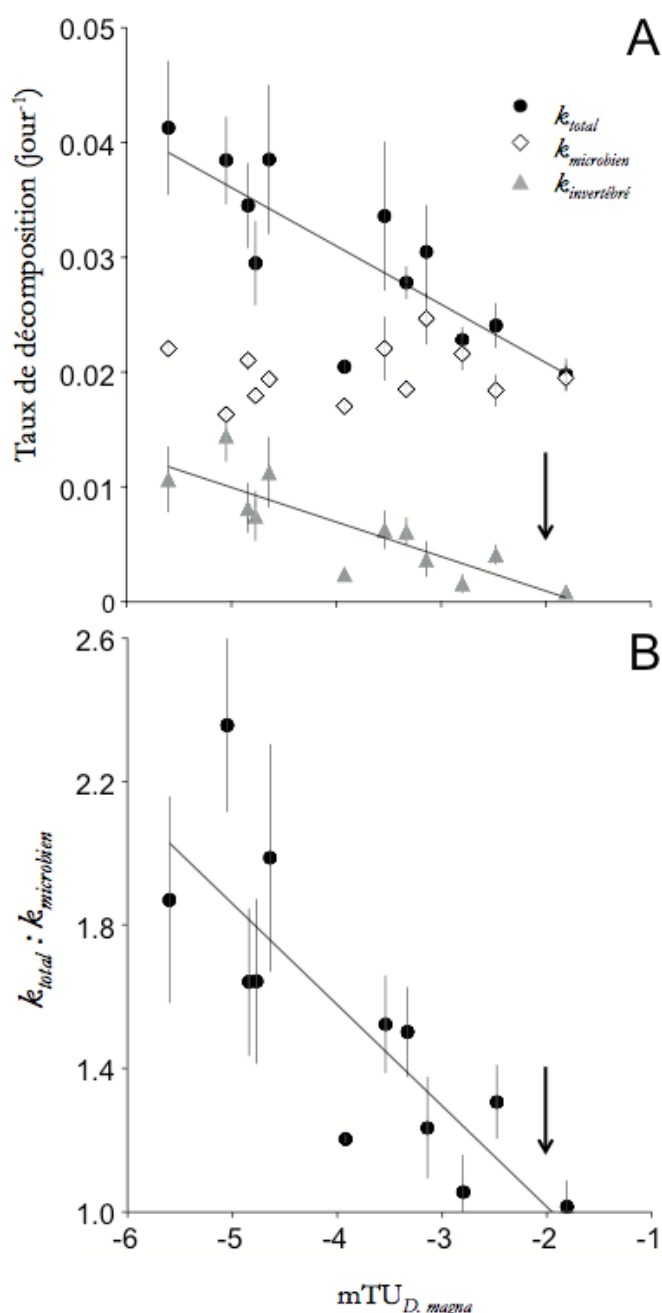


Figure 6 : Taux de décomposition des litières total, microbien et invertébré le long du gradient des unités toxiques pour *Daphnia magna* pour les 12 sites. B : Ratio du taux de décomposition total sur microbien le long du gradient des unités toxiques. Les flèches indiquent le seuil considéré comme protecteur pour *Daphnia magna* par l'Union Européenne (EEC, 1991)

- Analyse des corrélations

Les taux de décomposition k_{total} et $k_{invertébré}$ sont significativement et négativement corrélés à $mTU_{D.magna}$ et mTU_{alga} ($r^2 > -0,75$). Ces taux de décomposition sont positivement corrélés à l'abondance des décomposeurs invertébrés ($r \geq 0.74$, $P \leq 0.006$) et la richesse taxonomique des décomposeurs invertébrés est positivement corrélée au taux de décomposition invertébré ($r > 0.73$, $P \leq 0.007$). Les abondances des invertébrés et des décomposeurs sont également négativement corrélées à $mTU_{D.magna}$ et mTU_{alga} ($r^2 > -0,61$). Aucune corrélation n'a été mise en évidence pour $k_{microbien}$ avec les mTU ni aucune autre variable associée aux hyphomycètes aquatiques (biomasse fongique et taux de sporulation). Cependant une corrélation positive, bien que modérée entre la production de spores et mTU_{alga} a été observée ($r^2 = 0,56$ et $P = 0,060$), la non-significativité s'explique par une production de spores élevées pour l'Orbe, un site faiblement contaminé. Avec des coefficients de corrélations inférieurs à $-0,70$ ($P > 0.012$), l'indice $SPEAR_{pesticide}$ est fortement corrélé aux unités toxiques relatives à *Daphnia magna* ($mTU_{D.magna}$ et $sTU_{D.magna}$), ainsi qu'à la richesse taxonomique et l'abondance des invertébrés. Aucune correspondance n'a été trouvée entre les concentrations en ammonium et les autres variables. Pour les détails statistiques, voir le tableau 2.

Discussion

La présente étude confirme notre hypothèse principale selon laquelle la décomposition des litières diminue avec la contamination par les pesticides. Les résultats corroborent ceux de l'étude réalisée par Schäfer *et al.* (2007) qui ont trouvé une réduction de 2,4 entre leurs rivières agricoles la plus et la moins contaminées ($mTU_{D.magna}$: -5,0 à -0,42) très proche de ce que nous observons (réduction de 2,1 pour un gradient de $mTU_{D.magna}$ compris entre -5,6 et -1,8). De même les valeurs de taux de décomposition des litières de feuilles d'aulne sont dans des rangs similaires : 0,0198 – 0,0413 jour⁻¹ pour Schäfer *et al.* (2007) et 0,008 – 0,0670 jour⁻¹ pour la présente étude.

→ Ce processus est relativement constant dans des conditions similaires (*c.à.d.* des rivières traversant des plaines dominées par l'agriculture).

En appliquant un seuil de toxicité $mTU_{D.magna}$ à -3,5 pour discriminer les cours d'eau (Schäfer *et al.* 2007), il résulte que la moitié de nos rivières sont impactées avec une réduction de 58 % du taux de décomposition invertébré ce qui indique une sévère détérioration du processus (Gessner & Chauvet 2002). La perte de biodiversité des invertébrés due à la contamination par les pesticides a été mentionnée en France et en Allemagne au niveau de l'espèce et de la famille (Beketov *et al.* 2013). Dans la présente étude, il y a une réduction de 50 % de la richesse taxonomique des décomposeurs invertébrés et de 98,9 % de leur abondance entre la rivière la moins et la plus contaminée. L'abondance des Nemouridae et des Limnephilidae, connus pour être des taxons sensibles, se réduit avec la contamination. Au contraire, les Chironomidae, plus tolérants, sont bien représentés (Liess & Von der Ohe 2005). La sensibilité des décomposeurs invertébrés aux pesticides a déjà été évoquée (Suberkropp & Wallace 1992, Kreuzweiser *et al.* 2009) et peut s'expliquer par des effets directs (exposition aux pesticides) et indirects (consommation de mycélium et de feuilles contaminés) comme rapportés par Flores *et al.* (2014).

→ La réduction de la contribution des décomposeurs invertébrés le long du gradient de contamination est cohérente avec la réduction des taux de décomposition totaux et invertébrés.

Aucun effet de la contamination par les pesticides n'est observé sur la décomposition microbienne et les résultats suggèrent une potentielle stimulation de la production de conidies lorsque les unités toxiques augmentent pour les algues comme pour *D.magna*. Cet effet stimulant sur la sporulation été rapporté pour une contamination par l'insecticide imidaclopride (Suberkropp & Wallace 1992) et pour le cuivre (Roussel *et al.* 2008) et on l'attribue à une baisse de la compétition pour les litières et/ou de la prédation par les invertébrés (Bärlocher 1980)

→ Le long du gradient de contamination par les pesticides, il y a un passage progressif d'une décomposition co-assurée par les décomposeurs invertébrés et microbiens à une décomposition uniquement réalisée par les micro-organismes dont la sporulation est potentiellement stimulée.

Tableau 2 : Matrice de corrélation entre les variables réponses, les paramètres de toxicité et la concentration en ammonium en utilisant le coefficient de Pearson (côté gauche) et les *p-values* associées (côté droit). Les caractères en gras indiquent les corrélations significatives. * pour les variables log-transformées.

	k_{total}	$k_{microbe}$	$k_{invertebrate}$	Biomasse fongique	Taux de sporulation	R.T. hyphomycètes	R.T. invertébrés	R.T. décomposeurs invertébrés	Abondance invertébrés *	Abondance décomposeurs *	SPEAR _{pesticide}	mTU _{D.magna}	mTU _{alga}	sTU _{D.magna}	sTU _{alga}	[N-NH ₄]
k_{total}		0.557	<0.001	0.214	0.559	0.520	0.416	0.055	0.068	0.004	0.086	0.001	0.003	0.002	0.004	0.847
$k_{microbe}$	0.19		0.474	0.350	0.213	0.655	0.492	0.307	0.864	0.963	0.966	0.691	0.696	0.604	0.574	0.416
$k_{invertebrate}$	0.91	-0.23		0.500	0.247	0.758	0.247	0.007	0.071	0.006	0.088	0.001	0.001	0.001	0.001	0.783
Biomasse fongique	0.39	0.30	0.22		0.622	0.357	0.125	0.497	0.194	0.029	0.310	0.173	0.994	0.210	0.982	0.900
Taux de sporulation	-0.19	0.39	-0.36	0.16		1.000	0.749	0.356	0.512	0.379	0.832	0.256	0.077	0.177	0.060	0.078
R.T. hyphomycètes	-0.21	-0.14	-0.10	-0.29	0.00		0.638	0.590	0.082	0.183	0.456	0.410	0.427	0.513	0.449	0.926
R.T. invertébrés	0.26	-0.22	0.36	0.47	0.10	-0.15		0.005	0.007	0.022	0.012	0.052	0.477	0.054	0.398	0.300
R.T. décomposeurs invertébrés	0.57	-0.32	0.73	0.22	-0.29	-0.17	0.75		0.055	0.002	0.065	0.011	0.044	0.010	0.032	0.358
Abondance invertébrés *	0.54	-0.06	0.54	0.40	0.21	-0.52	0.73	0.57		0.015	0.001	0.008	0.164	0.015	0.141	0.890
Abondance invertébrés décomposeurs *	0.76	0.01	0.74	0.63	-0.28	-0.41	0.65	0.80	0.68		0.014	<0.001	0.062	<0.001	0.049	0.459
SPEAR _{pesticide}	0.52	-0.01	0.51	0.32	-0.07	-0.24	0.70	0.55	0.83	0.68		0.002	0.155	0.004	0.119	0.490
mTU _{D.magna}	-0.81	0.13	-0.84	-0.42	0.36	0.26	-0.57	-0.70	-0.72	-0.87	-0.79		0.008	<0.001	0.005	0.629
mTU _{alga}	-0.77	0.13	-0.82	0.00	0.53	0.25	-0.23	-0.59	-0.43	-0.55	-0.44	0.72		0.005	<0.001	0.491
sTU _{D.magna}	-0.81	0.17	-0.84	-0.39	0.42	0.21	-0.57	-0.71	-0.68	-0.85	-0.76	0.99	0.76		0.003	0.445
sTU _{alga}	-0.76	0.18	-0.84	-0.01	0.56	0.24	-0.27	-0.62	-0.45	-0.58	-0.47	0.75	1.00	0.78		0.390
[N-NH ₄]	0.06	0.26	-0.09	-0.04	0.53	-0.03	-0.33	-0.29	-0.04	-0.24	-0.22	0.24	0.27	0.16	0.22	

Réponse de la décomposition aux rejets industriels

Introduction

L'eau utilisée par les industries est rejetée dans la rivière après traitement et rétention des polluants. Cependant, rares sont les traitements qui retiennent la totalité des molécules et une part parfois non négligeable se retrouve dans les écosystèmes aquatiques avec de potentielles conséquences pour les communautés aquatiques et les processus écologiques.

L'objectif ici est d'observer les effets de quelques rejets industriels sur le processus de décomposition.

Nos hypothèses sont les suivantes :

- le taux de décomposition total est affecté par les rejets industriels
- la réponse du taux de décomposition des décomposeurs invertébrés est différente de celle des décomposeurs microbiens.
- l'abondance et les activités des décomposeurs invertébrés et microbiens répondent également de façon différente

Matériel & méthodes

- Sélection des sites

Les sites ont été sélectionnés en amont et aval proche de 4 sites industriels du sud-ouest de la France (Tableau 3). Deux rejets industriels se trouvent sur le Retjons à quelques kilomètres d'intervalle.

Pour caractériser l'impact de chacun des rejets, un site de l'AEAG est sélectionné en amont de l'impact et un autre en aval, avec donc un total de huit stations d'étude (Tableau 3)

Tableau 3 : Description des activités industrielles et du type de pollution dus à leur rejet dans le milieu aquatique (MES : matière en suspension, N : substances azotées – nitrates, nitrites, ammonium –, P : phosphates, COD : carbone organique dissous)

Rivière	Typologie	Activité industrielle	Type de rejet
Le Retjons1	P13	Synthèse de pesticides	aniline (rejets ponctuels)
Le Retjons2	P13	Fabrication de papier et cartons	Cellulose, MES
Les Eaux Claires	TP11	Production de gélatine alimentaire	N, P
La Légère	TP9	Synthèse de produits chimiques	métaux, COD, N, P

- Analyse physiques et chimique de l'eau

Excepté la température, les caractéristiques physicochimiques proviennent de la base de données de l'AEAG à partir de prélèvements réalisés sur une période d'un an précédant la décomposition.

- La décomposition des litières

Voir le protocole présenté dans la partie « AXE 1 ».

La décomposition en amont et aval du site industriel de la papeterie a été expérimentée au cours de hiver 2013, tandis qu'elle a eu lieu lors de l'hiver 2014 pour les autres sites industriels.

- Analyse des données

Les taux de décomposition et les variables associées aux décomposeurs invertébrés et microbiens ont été comparés en amont et en aval de chaque site industriel à l'aide du test t de Student. Lorsque nécessaire les données ont été transformées (transformation logarithmique ou transformation inverse) ; dans les cas où la distribution ne suit pas la loi normale, c'est le test de Wilcoxon Mann et Whitney qui a été réalisé.

Les tests statistiques ont été réalisés avec le logiciel statistique R en libre accès (version 3.1.3). Les résultats sont considérés significatifs lorsque la p-value est inférieure à 0,05.

Résultats

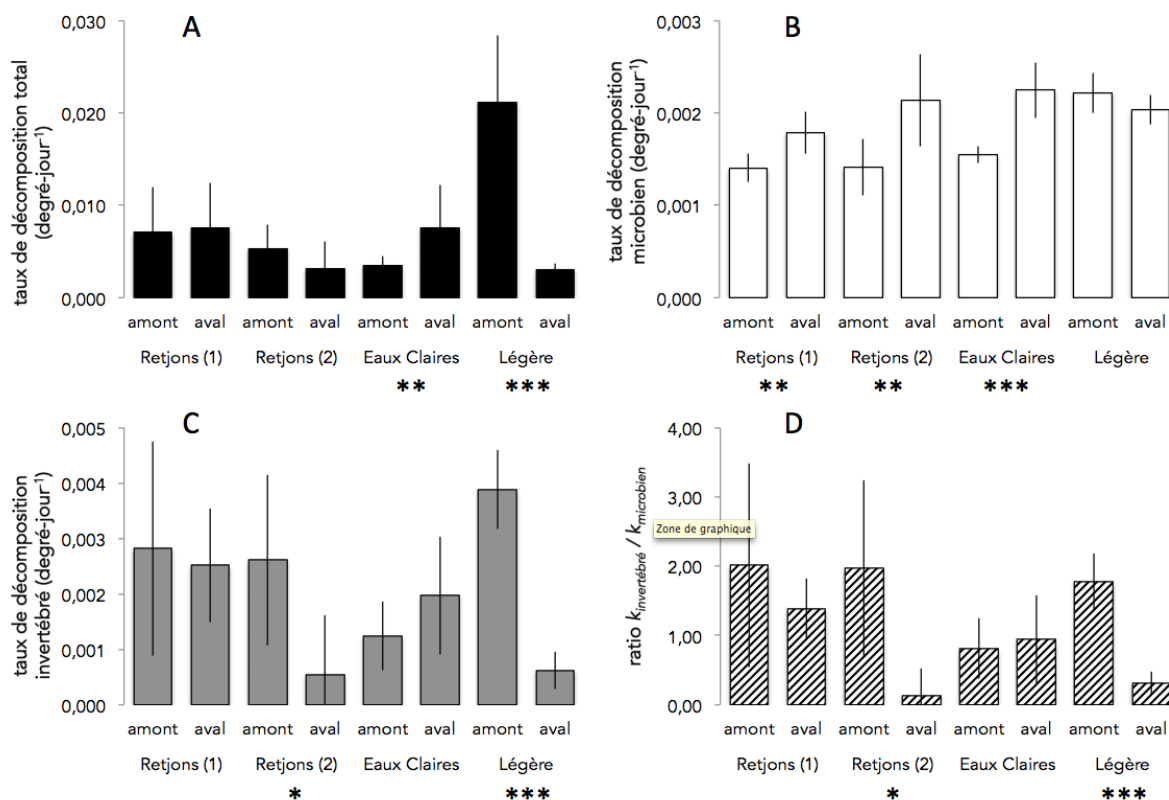


Figure 7 : Moyenne des taux de décomposition totaux (A) microbiens (B) et invertébrés (C) puis des ratios $k_{invertébré} / k_{microbien}$ (D) en amont et aval de chacun des quatre sites industriels. Les barres d'erreurs figurent l'écart-type. La significativité des résultats est * pour $P < 0,05$, ** pour $P < 0,001$ et *** pour $P < 0,0001$.

Le taux de décomposition total n'est pas affecté par les rejets industriels déversés sur le Retjons, par contre celui-ci est significativement stimulé (stimulation de 200 % du taux de décomposition total) en aval du rejet industriel des Eaux Claires et il est très fortement diminué (réduction de 680 %) en aval du rejet de la Légère (Figure 7 A).

Les taux de décomposition microbiens sont significativement stimulés par les rejets industriels du Retjons (stimulation de 129% pour le site Retjons1, de 150 % en aval de Retjons2) et des Eaux Claires (stimulation de 137 %), alors que la faible réduction du taux à l'aval du rejet dans la Légère n'est pas significative (Figure 7 B).

Les taux de décomposition invertébré sont significativement inhibés en aval des rejets du site 2 du Retjons (réduction de 520 %) et de la Légère (réduction de 630%) (Figure C) tandis que le taux de décomposition invertébré ne semble pas modifié en aval de Retjons1 et des Eaux Claires. Le rapport $k_{invertébré} : k_{microbien}$ met en évidence la forte réduction de la contribution de la décomposition réalisée par les invertébrés (réduction de 1000 % en aval de Retjons2 et de 600 % en aval de la Légère (Figure 7 D). Par contre la contribution microbienne n'augmente pas en aval des sites de Retjons1 et des Eaux Claires malgré un taux de décomposition microbien significativement stimulé.

Discussion

De façon générale, le taux de décomposition total ne répond pas de façon unimodale aux rejets industriels considérés dans cette étude. Il semble que ce soit le contenu spécifique des rejets qui induise soit une stimulation soit une inhibition du processus. La stimulation de la décomposition en aval des Eaux Claires pourrait s'expliquer par un rejet riche en azote et en phosphore, tandis que la présence d'éléments traces métalliques contenus dans le rejet de la Légère peuvent potentiellement l'inhiber. La stimulation de la décomposition par les nutriments a déjà été largement étudiée (voir la méta-analyse de Ferreira *et al.* 2014) et le compartiment microbien répond très sensiblement à une hausse en nutriments.

→ Le rejet situé en aval des Eaux Claires semble stimuler le processus de décomposition et notamment la décomposition microbienne.

D'autres études ont mis en évidence une réduction importante de la décomposition en aval de bassins miniers (*ex*: Lecerf & Chauvet 2008) et d'après nos résultats cette réduction est principalement due à une forte réduction de l'activité des décomposeurs invertébrés non compensée par les décomposeurs microbiens. On suppose que le taux de consommation des litières est ralenti en présence de plusieurs métaux tel que l'on montré Dedourge-Deffard *et al.* (2009) sur l'activité de consommation des gammarus (*Gammarus fossarum*, Koch).

→ Concernant la Légère, le rejet situé en aval perturbe très fortement l'activité des décomposeurs invertébrés ce qui ralentit très fortement le processus de décomposition dans sa totalité.

Le rejet de la papeterie (Retjons2) ne semble pas avoir d'effet sur la décomposition totale. Cependant si l'on s'intéresse à la décomposition réalisée dans chacun des compartiments, on comprend que le taux de décomposition microbien compense le taux de décomposition invertébrés. De plus l'abondance et la richesse taxonomique des décomposeurs invertébrés sont très fortement réduites et une surabondance de Chironomidae est observée.

→ Alors que le processus de décomposition semble maintenu en aval de la papeterie (Retjons2), l'analyse des taux de décomposition par compartiment révèle que c'est la décomposition microbienne qui soutient ce processus.

Le rejet de l'industrie de pesticides de synthèse rejette ponctuellement de l'aniline, ce qui ne semble pas affecter le processus de décomposition. La légère stimulation du taux de décomposition microbien ne modifie pas la contribution des décomposeurs invertébrés et microbiens.

→ Aune modification du processus de décomposition n'a été mise en évidence en aval de l'industrie de pesticides de synthèse.

Axe 3 : comparaison des indices structurels et fonctionnels

Introduction

L'évaluation de l'état écologique des rivières s'appuie en France comme en Europe essentiellement sur l'observation des communautés de poissons, d'invertébrés benthiques des macrophytes et des diatomées. Cependant il a été démontré que les indices basés sur ces communautés ne permettent pas systématiquement d'en déduire la qualité du fonctionnement de ces mêmes rivières (Covich *et al.* 2004). Ainsi au niveau européen on encourage le développement d'autres indicateurs dont ceux qui se baseront sur une évaluation fonctionnelle (Reyjol *et al.* 2014).

Dans cet axe, nous nous intéressons à comparer la réponse obtenue par la décomposition des litières à celles obtenues par le biais d'indicateurs utilisés en routine, notamment les indicateurs structuraux ciblant les invertébrés aquatiques et les diatomées.

Notre hypothèse est que la réponse fonctionnelle exprimée par les taux de décomposition n'est pas redondante avec l'information fournie par les indicateurs de structure des communautés.

Matériels et méthodes

Nous avons sélectionné 81 stations pour laquelle l'AEAG évalue la qualité des eaux via l'Indice Biologique Global (IBG-DCE) ou l'Indice Biologique Global Normalisé (IBGN) et 71 stations via l'Indice Biologique Diatomées (IBD).

Ces prélèvements sont réalisés durant la période d'étiage estival, tandis que la décomposition des litières d'aulne a lieu durant les saisons automne et hiver. Les stations sont sélectionnées pour couvrir l'ensemble des valeurs IBGN et IBD mesurée au niveau du bassin Adour-Garonne.

Résultats

Les stations ont des notes IBGN avec un gradient de note plus large (4 à 20) que les notes IBD qui sont comprises entre 9 et 20 exceptée une station présentant une note IBD de 3 (Figure 8).

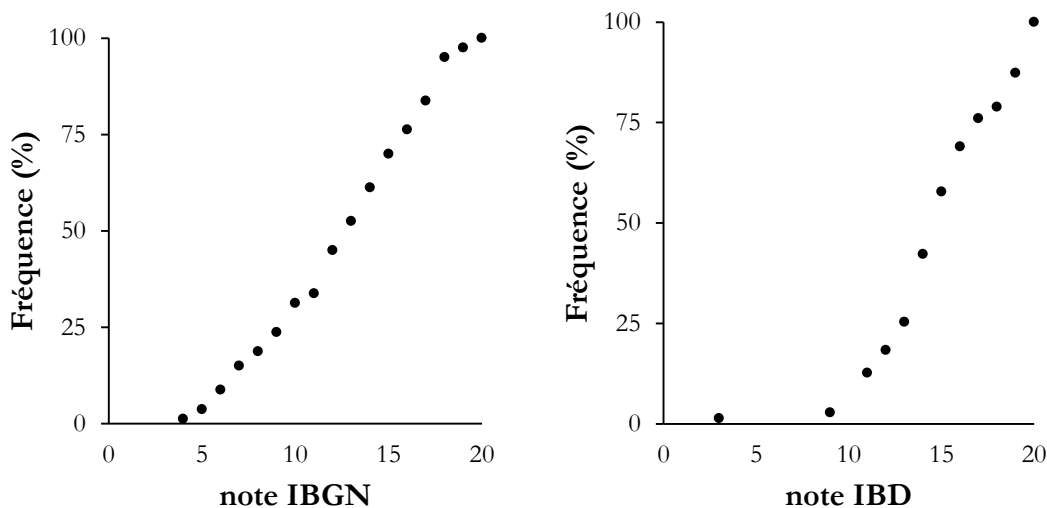


Figure 8 : Fréquence des notes IBGN et IBD pour les stations étudiées.

D'après la figure 9, les taux de décomposition total et invertébré n'apparaissent pas corrélés par une quelconque relation. Cependant, une relation linéaire positive entre les taux de décomposition microbien et les scores IBGN est observée avec $k_{microbien} = 7 \times 10^{-5} \text{ IBGN} + 0,0016$, $R^2 = 0,10$ et $P < 0,05$.

La distribution des taux de décomposition total et invertébré laisse apparaître un certain motif le long des scores IBD (Figure 9) avec une variabilité des taux de décomposition faible aux deux

extrémité des valeurs IBD et un maximum de variabilité pour des valeurs IBD comprises entre 13 et 16. Aucune relation n'est observée avec les taux de décomposition microbien.

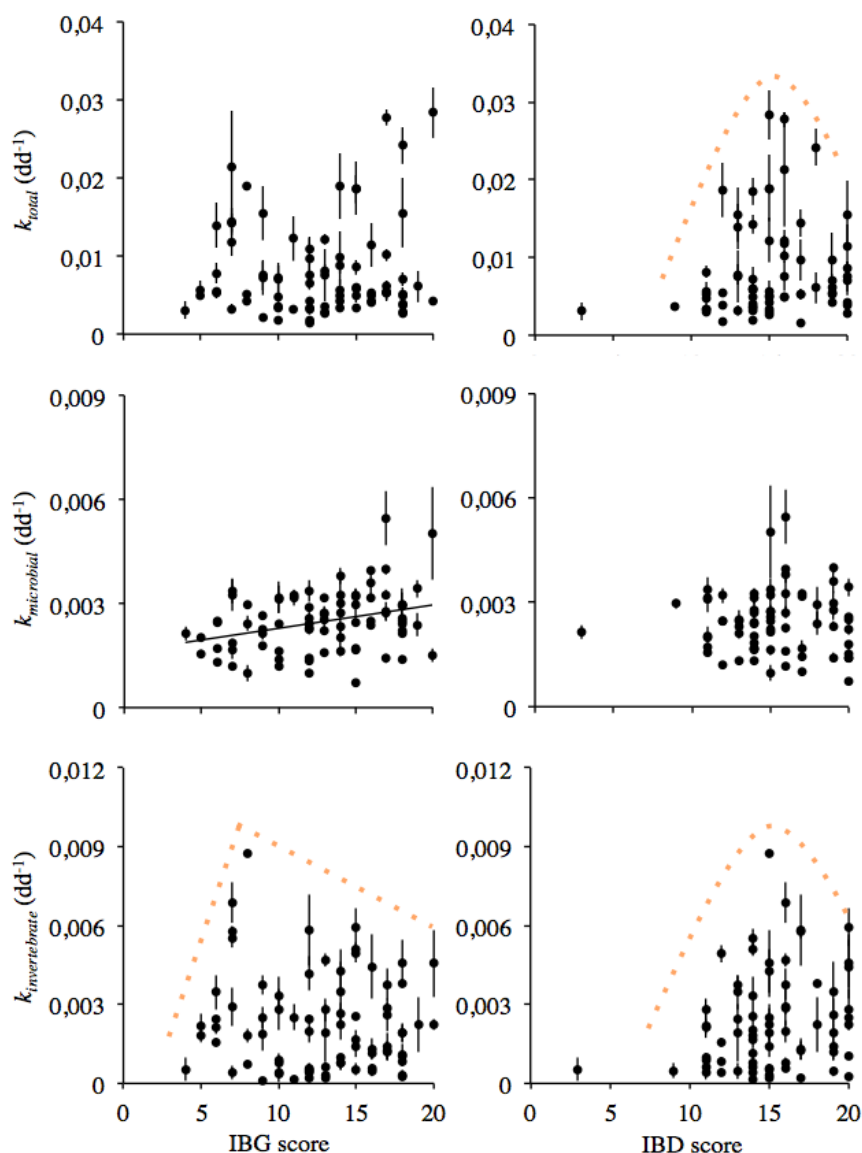


Figure 9 : Expression de la moyenne (\pm l'écart type) des taux de décomposition moyen total, microbien et invertébré par station selon la note IBGN et IBD obtenue sur le même site.

Par ailleurs aucune relation n'est observée lorsque l'on compare les scores IBGN et IBD entre eux (Figure 10).

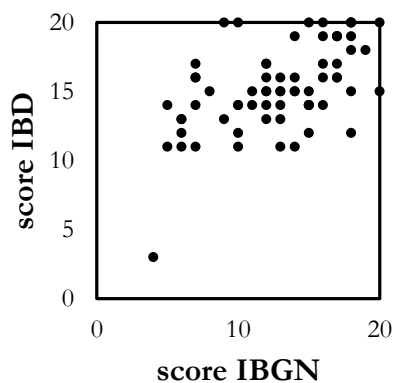


Figure 10 : Distribution des scores IBD en fonction des scores IBGN

Discussion

Dans les rivières suivies, l'absence de relation linéaire entre les taux de décomposition total et les indices IBGN et IBD semble valider notre hypothèse de départ de non-complémentarité des réponses fonctionnelles et structurelles. Cependant une relation linéaire positive a été observée pour les taux de décomposition microbien et l'indice IBGN. Toutefois cette relation n'est plus significative lorsque l'on exprime les taux de décomposition en jour⁻¹, mettant ainsi en évidence l'importance des variations de température inter-sites dans les taux de décomposition microbiens.

La variabilité élevée des taux de décomposition totale et invertébré pour des valeurs IBD intermédiaires rappelle la réponse de ces mêmes taux le long d'un gradient d'eutrophisation comprenant les formes inorganiques dissoutes de l'azote et du phosphore (Woodward *et al.* 2012). En condition oligotrophe, les taux de décomposition sont limités par les faibles concentrations en nutriments, tandis qu'en condition hyper-eutrophe la décomposition est inhibée par la présence de formes toxiques telles le couple ammonium-ammoniacal (Lecerf *et al.* 2006) et la cooccurrence d'autres paramètres limitants tels les pesticides (Peters *et al.* 2013) ou les modifications hydromorphologiques en lien avec un changement de l'occupation des sols de la forêt à une surface de culture intensive (*ex* : Gelroth & Marzolf 1978, Lecerf *et al.* 2005, Piscart *et al.* 2011).

Commentaires

L'analyse de ces résultats n'est pas achevée, aussi il conviendra de tenir compte des conclusions de la thèse.

Axe 4 : proposition d'un indicateur

Introduction

Avec une politique environnementale courageuse de la part de l'Union Européenne, les états membres sont invités à améliorer la qualité de leurs écosystèmes aquatiques jusqu'à garantir un bon état de ceux-ci. Dans ce sens, la Directive Cadre sur L'Eau favorise la prise en compte de toutes les composantes des écosystèmes aquatiques avec notamment le développement d'indicateurs basés l'évaluation du fonctionnement (Reyjol *et al.* 2014).

Le présent projet est ciblé sur le processus de décomposition des litières qui est un processus majeur dans les rivières dont la canopée a potentiellement la capacité de recouvrir le lit.

L'objectif de cet axe du projet est de proposer un indicateur qualifiant l'état de fonctionnement de l'écosystème rivière.

Matériels & méthodes

- Sites d'étude

Durant les 3 ans du projet, la décomposition des litières de feuilles d'aulne a été suivie sur 85 cours d'eau d'ordre de Strahler compris de 1 à 4 (Figure 11).

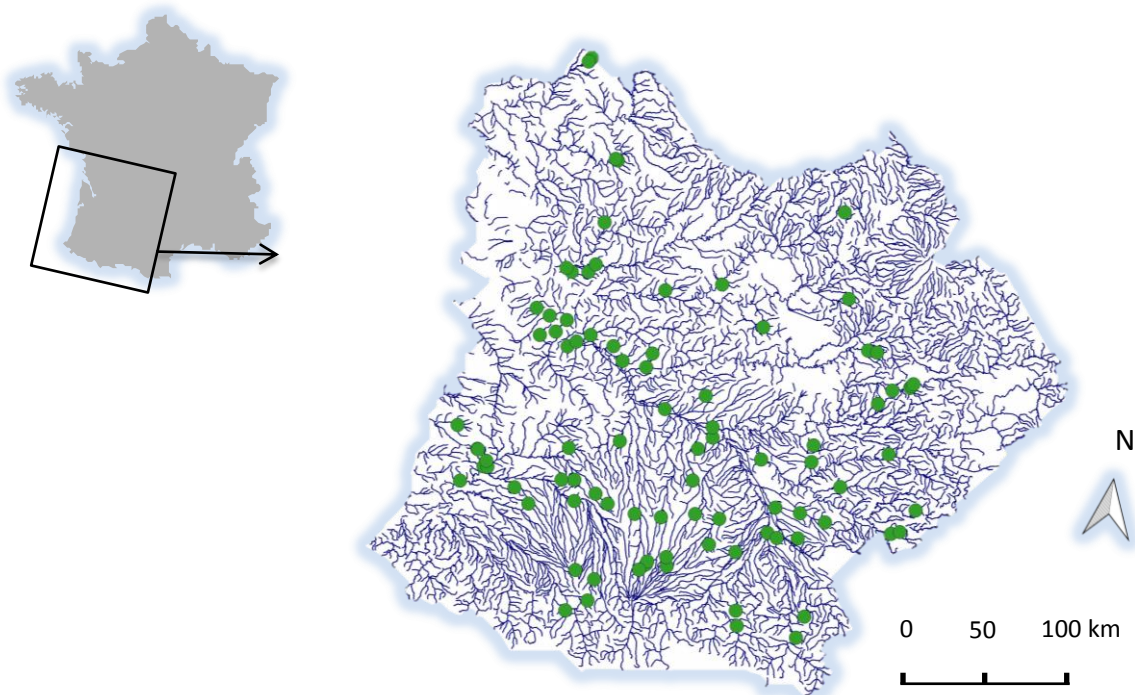


Figure 11 : Localisation des 85 sites sur le réseau hydrographique du bassin Adour-Garonne

- Sites de référence

A partir de la littérature, quatre cours d'eau de la Montagne Noire dépourvus d'impact anthropique direct ont été sélectionnés pour être considérés comme des sites de référence (Hladysz *et al.* 2012) pour les cours d'eau étudiés dans ce projet.

- Calcul de l'indicateur provisoire

A partir des taux de décomposition mesurés sur ces sites de référence, a été calculé le rapport $k_{\text{invertébré}} : k_{\text{microbien}}$ moyen qui est 1.7. Ensuite, il a été calculé un écart à ce ratio pour attribuer une catégorie à chacun des cours d'eau de l'étude (Tableau 4).

Tableau 4 : Calcul des rapports $k_{\text{invertébré}} : k_{\text{microbien}}$ délimitant les classes de qualité en se basant sur un rapport moyen optimal de 1,7.

Indice	Coefficient	$k_{\text{invertébré}} : k_{\text{microbien}}$
Mauvais	4,00	[6,8 à ∞[
Médiocre	2,00]3,4 à 6,8]
Moyen	1,33]2,3 à 3,4]
Bon	1,11]1,9 à 2,3]
Très bon	1,00]1,5 à 1,9]
Bon	0,90]1,3 à 1,5[
Moyen	0,75]0,9 à 1,3[
Médiocre	0,50]0,4 à 0,9[
Mauvais	0,25]0,0 à 0,4[

A partir du calcul de ces ratios, les taux de décomposition invertébré et microbien ont été projetés graphiquement avec le code couleur correspondant. Puis, par détermination de la droite dite de référence $y = 1,7x$, les droites délimitant les différentes classes d'intégrité fonctionnelle ont été tracées (Figure 12).

Résultats

Le ratio $k_{\text{invertébré}} : k_{\text{microbien}}$ discrimine les 85 cours d'eau de la manière suivante : 7 rivières au fonctionnement non impacté (indice très bon), 10 rivières au fonctionnement relativement bon (indice « bon »), 18 rivières au fonctionnement moyen, 16 rivières au fonctionnement médiocre et 34 rivières ayant un mauvais fonctionnement (Figure 12).

Les stations de l'étude pour les pesticides sont toutes localisées dans les catégories « moyenne » à « mauvaise » (Figure 13).

La distribution des taux de décomposition en fonction des notes IBGN et IBD est projetée sur le graphique de l'indicateur provisoire ; elle montre une absence de lien directe entre l'indicateur fonctionnel provisoire et les indices structuraux (Figure 14).

On observe, en effet, des tronçons de rivière classés en très bon état pour les notes IBGN ou IBD mais considérées en dysfonctionnement avec le présent indicateur.

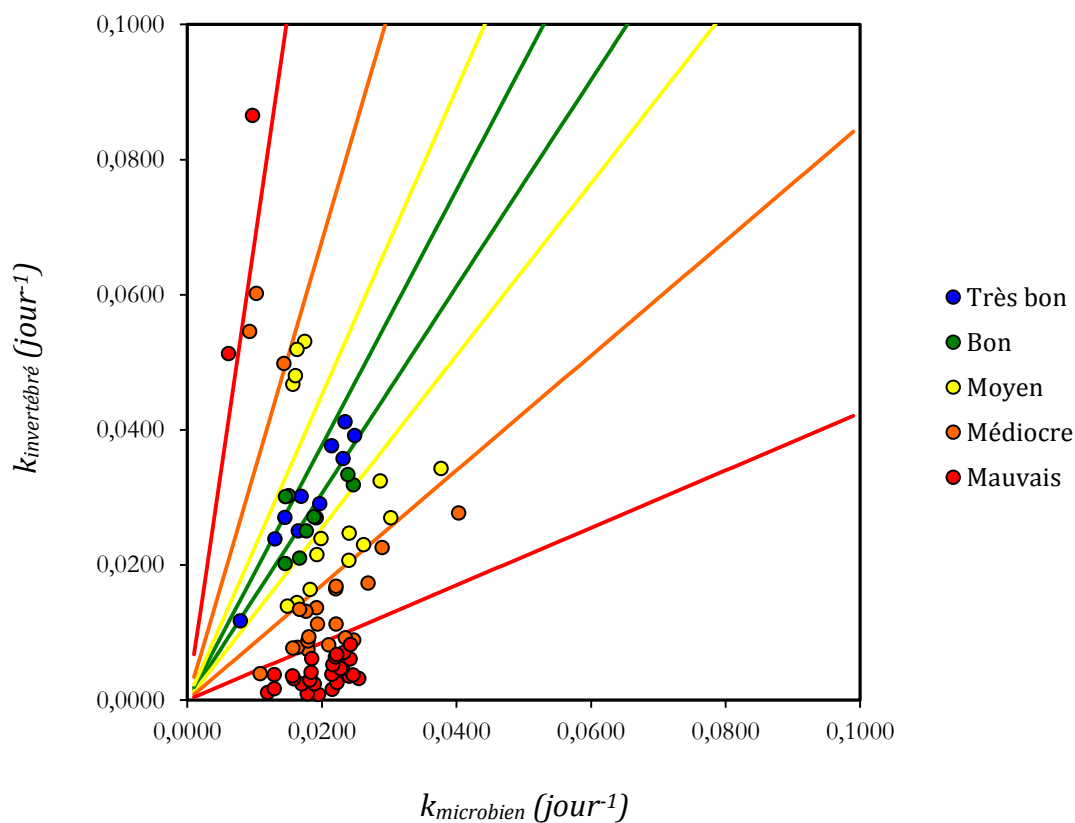


Figure 12 : Projection des taux de décomposition invertébré et microbien des 85 sites d'étude sur le graphique de l'indicateur provisoire.

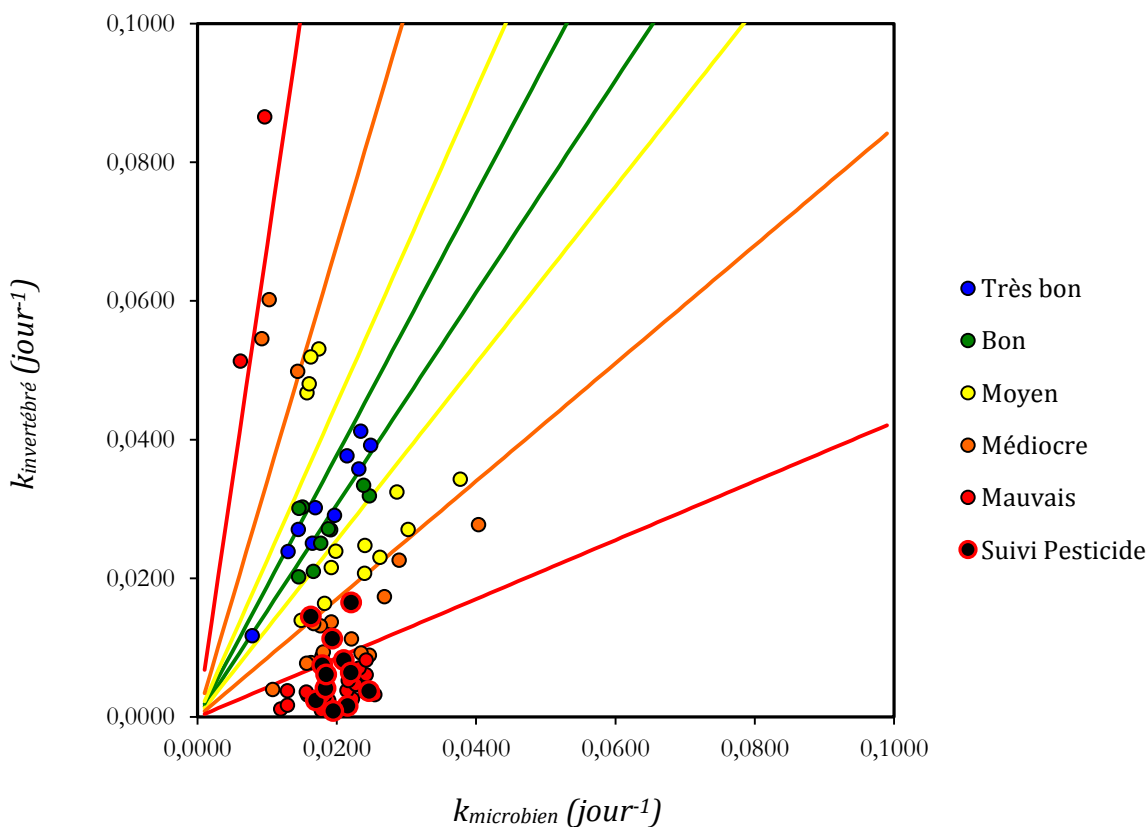


Figure 13 : Localisation des stations sélectionnées pour la problématique pesticides sur le graphique de l'indicateur provisoire (points de couleur noire surlignée de rouge). Tous sites considérés se trouvent dans les zones de fonctionnement médiocre à mauvais.

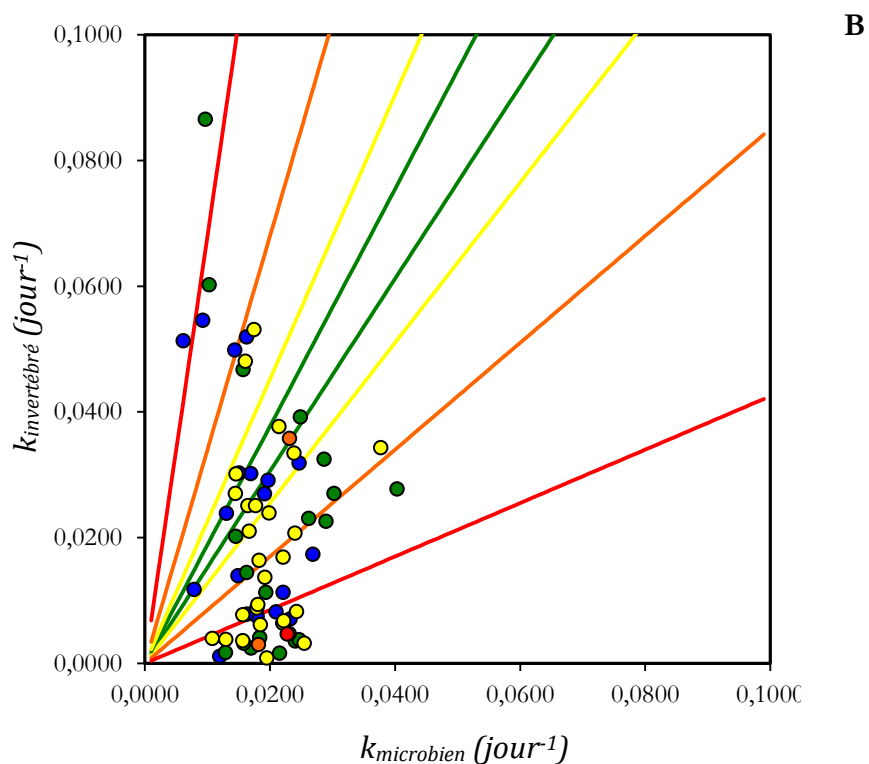
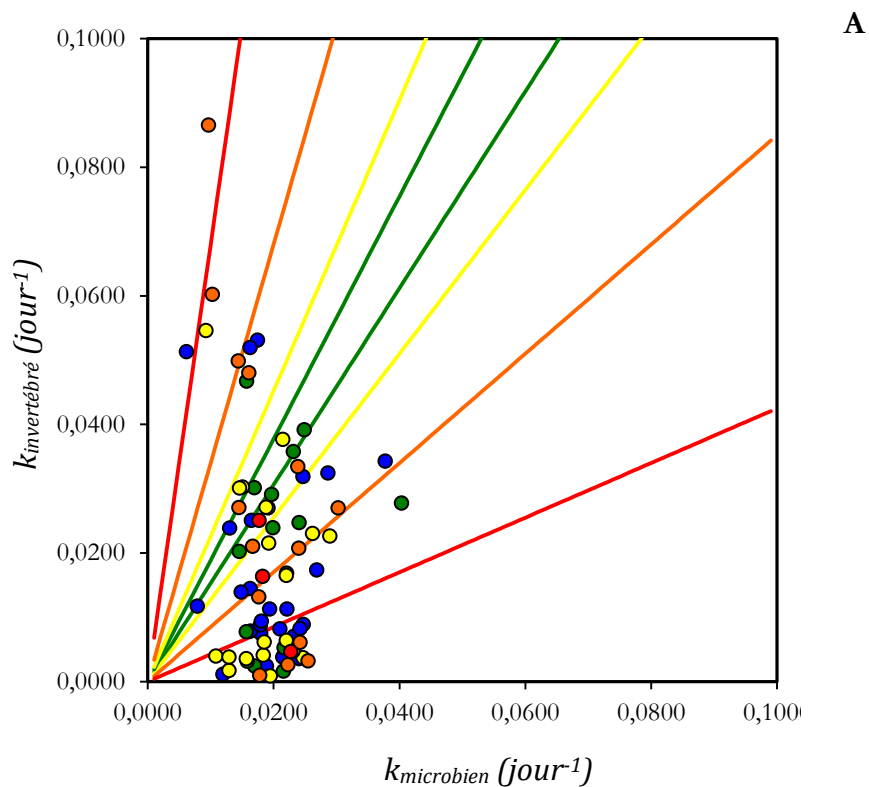


Figure 14 : Distribution des taux de décomposition en fonction des notes IBGN (A) et des notes IBD (B) obtenus sur les mêmes sites.

Discussion

Le processus de décomposition des litières étant réalisé à la fois par les décomposeurs invertébrés et microbiens, le choix a été de les représenter graphiquement en tenant compte de la contribution généralement plus élevée des décomposeurs invertébrés (*ex* : Hieber & Gessner 2002) observée dans les rivières de référence locales (Haldysz *et al.* 2012). Les limites de classes proposées provisoirement sont arbitraires et tiennent compte de l'écart au rapport de référence taux de décomposition invertébré sur taux de décomposition microbien de 1,7. Les limites inférieures correspondant au bon état on ainsi été fixées à 75 et 133 % du rapport de référence. Celles du très bon état sont placées à 90 et 111% car il est admis que des rivières intactes de perturbations ne se trouvent plus sur nos territoires et donc on surestimerait les rivières en très bon fonctionnement avec un seuil moins étroit (Chessman *et al.* 2008). Les limites inférieures de l'état moyen sont placées à 50% et 200% et celles de l'état médiocre à 25 % et 400 %.

→ L'indicateur met en avant l'importance d'une contribution proportionnée des décomposeurs invertébré et microbien pour garantir un fonctionnement correct et les limites de classes provisoires ont été choisies arbitrairement.

Le présent indicateur confirme que le processus de décomposition est altéré en présence des pesticides, car toutes les stations se situent dans le bas du graphique, signifiant ainsi une très faible contribution des décomposeurs invertébrés. La projection des notes IBD et IBGN obtenues pour chacun des sites sur le graphique d'interprétation de l'indicateur confirme l'absence de redondance de l'infirmité dégagée par les indicateurs structuraux et par la décomposition. Dans les rivières étudiées, seulement 22 % des rivières sont classées en bon état d'après l'indicateur provisoire proposé. Les raisons de cette forte discrimination peuvent-être dues, d'une part à la conception de l'indicateur provisoire proposé et d'autre part, par les nombreuses pressions qui caractérisent le bassin Adour Garonne fortement agricole (*ex* : eutrophisation et contamination par les pesticides, linéarisation, absence de ripisylve arborée, ...).

→ Les indicateurs structuraux permettent de conclure que 51 % (note IBGN) et 68 % (note IBD) des 85 tronçons étudiés sont au moins dans un bon état écologique, contrairement à ce qui est observé avec l'indicateur décomposition des litières où ce sont seulement 22 % des rivières qui sont considérées comme ayant un fonctionnement quasiment non perturbé.

Axe 5 : Réalisation d'une base de données

La base de données incluant les caractéristiques des stations d'étude et les données expérimentales sur la décomposition est en cours de finalisation.

Valorisation

Publications

Le premier article portant sur la réponse du processus de décomposition à un gradient de contamination par les pesticides a été soumis au mois d'août 2015 dans la revue internationale à comité de lecture *Hydrobiologia*.

Le second article qui cible la comparaison de l'information dégagée par la décomposition des litières et à celle des indices biotiques classiques (axe 2) est en cours de rédaction.

Le troisième article, également en cours de rédaction, cible les capacités de l'indicateur à discriminer les perturbations multiples observées sur notre jeu de stations.

Conférences Internationales

2014

La conférence organisée par le Groupe d'Ecologie Aquatique de la Société Britannique d'Ecologie a porté spécifiquement sur la dynamique détritique dans les écosystèmes aquatiques et a regroupé de nombreux spécialistes du domaine. Des contacts ont été pris avec des chercheurs concernés par les mêmes thématiques et un poster relatif à l'effet des pesticides sur la décomposition des litières y a été présenté :

Brosed M., Lamothe S. & Chauvet E. **poster** : « Litter decomposition in farmland streams : is the influence of pesticides measurable ? » au Detrital Dynamics meeting du groupe d'écologie aquatique de la Société Britannique d'Ecologie du 21 au 25 juillet 2014 à Londres.

2015

Le 9^{ème} Symposium européen scientifique sur les eaux douces a réuni les doctorants et chercheurs sur des thématiques de pointe avec une journée et demie dédiée à la bio-indication dans laquelle notre travail sur l'évaluation fonctionnelle des rivières à partir de la décomposition des litières a eu sa place :

Brosed M. & Chauvet E. **présentation orale** : « Monitoring of freshwater ecosystems : contribution of leaf litter decomposition » au 9th Symposium for European Freshwater Sciences du 6 au 10 juillet 2015 à Genève.

Conclusions générales

Il s'agit de la première étude réalisée sur des sites de type réseau de surveillance de l'Agence de l'Eau, lesquels ne sont pas choisis pour discriminer une perturbation particulière, mais au contraire parce qu'ils sont représentatifs des perturbations présentes sur l'ensemble du tronçon de rivière sur lequel ils se trouvent.

L'indicateur proposé présente néanmoins un caractère suffisamment discriminant pour catégoriser la qualité du processus de décomposition de litières végétales dans chacun des sites. Cependant l'indicateur doit encore être amélioré afin de garantir sa robustesse. Pour cela la prochaine étape pourrait être (1) d'évaluer ce processus sur un grand nombre de tronçons de rivières a priori non perturbés et (2) de tester la variabilité inhérente au processus de décomposition.

De plus, il a été mis en évidence que l'évaluation dégagée par les indicateurs structuraux existants et par l'indicateur proposé ici sont complémentaires ce qui justifie la prise en compte de ce processus dans l'évaluation de l'état écologique des rivières.

Enfin le présent projet est un travail préliminaire qui vise à justifier de l'intérêt à prendre en compte la décomposition des litières de feuilles dans l'évaluation fonctionnelle des écosystèmes aquatiques. La thèse en cours de finalisation associée à ce projet apportera les conclusions définitives pour chacun des axes présentés dans ce rapport.

Bibliographie

- Backhaus, T., & M. Faust, 2012. Predictive Environmental Risk Assessment of Chemical Mixtures: A Conceptual Framework. *Environmental Science and Technology* 46: 2564–2573.
- Bärlocher, F., 1980. Leaf-eating invertebrates as competitors of aquatic hyphomycetes. *Oecologia* 47: 303–306.
- Beketov, M. A., K. Foit, R. B. Schäfer, C. A. Schriever, A. Sacchi, E. Capri, J. Biggs, C. Wells, & M. Liess, 2009. SPEAR indicates pesticide effects in streams - Comparative use of species- and family-level biomonitoring data. *Environmental Pollution* 157: 1841–1848.
- Beketov, M. A., B. J. Kefford, R. B. Schäfer & M. Liess, 2013. Pesticides reduce regional biodiversity of stream invertebrates. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110: 11039–11043.
- Bunn S. E. & P. M. Davies, 2000. Biological processes in running waters and their implications for the assessment of ecological integrity. *Hydrobiologia*, 422, 61–70.
- European Commission. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy. *Official Journal* 2000 ; L 327:1–72.
- Chauvet, E., 1990. Hyphomycètes aquatiques du sud-ouest de la France. *Gaussonia* 6: 3–31.
- Chessman B. C., M. Muschal & J. Royal, 2008. Apples with apples : use of limiting environmental differences to match reference and stressor-exposure sites for bioassessment in streams. *River Research and Applications* 24(1) 103-107.
- Covich A.P., M. C. Austen, F. Bärlocher, E. Chauvet, B. J. Cardinale, C. L. Biles, P. Inchausti, O. Dangles, M. Solan, M. O. Gessner, B. Statzner & B. Moss, 2004. The role of biodiversity in the functioning of freshwater and marine benthic ecosystems. *BioScience*, 54, 767–775.
- EEC, 1991. Council Directive of 15 July 1991 Concerning the Placing of Plant Protection Products on the Market. Luxembourg.
- Flores, L., Z. Banjac, M. Farré, A. Larrañaga, E. Mas-Martí, I. Muñoz, D. Barceló, & A. Elosegi, 2014. Effects of a fungicide (imazalil) and an insecticide (diazinon) on stream fungi and invertebrates associated with litter breakdown. *Science of the Total Environment* 476-477: 532–541.
- Gelroth J. V. & G. R. Marzolf, 1978. Primary production and leaf-litter decomposition in natural and channelized portions of a Kansas stream. *American Midland Naturalist*, 99:238–243.
- Gessner, M. O., F. Bärlocher, & E. Chauvet, 2007. Qualitative and quantitative analysis of aquatic hyphomycetes in streams In Tsui, C. K. M., & K. D. Hyde (eds), *Freshwater mycology. Fungal Diversity Press, Hong Kong*: 127–157.
- Gessner, M. O., 2005. Ergosterol as a measure of fungal biomass. In Graça, M. A. S., F. Bärlocher, & M. O. Gessner (eds), *Methods to Study Litter Decomposition. Springer-Verlag, Dordrecht, The Netherlands*: 189–195.

Gessner, M. O., & E. Chauvet, 1993. Ergosterol-to-biomass conversion factors for aquatic hyphomycetes. *Applied and Environmental Microbiology* 59: 502–507.

Gessner M. & E. Chauvet, 2002. A case for using litter breakdown to assess functional stream integrity. *Ecological Applications*, 12(2), 498-510.

Gulis, V., L. Marvanová, & E. Descals, 2005. An illustrated key to the common temperate species of aquatic hyphomycetes In Graça, M. A. S., F. Bärlocher, & M. O. Gessner (eds), *Methods to Study Litter Decomposition*. Kluwer Academic, Dordrecht: 153–167.

Hladyz, S., S. D. Tiegs, M. O. Gessner, P. S. Giller, G. Rîșnoveanu, E. Preda, M. Nistorescu, M. Schindler, & G. Woodward, 2010. Leaf-litter breakdown in pasture and deciduous woodland streams: a comparison among three European regions. *Freshwater Biology* 55: 1916–1929.

Kreutzweiser, D. P., D. G. Thompson, & T. a. Scarr, 2009. Imidacloprid in leaves from systemically treated trees may inhibit litter breakdown by non-target invertebrates. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72: 1053–1057.

Lecerf, A., M. Dobson, C. K. Dang, & E. Chauvet, 2005. Riparian plant species loss alters trophic dynamics in detritus-based stream ecosystems. *Oecologia* 146: 432–442.

Lecerf, A., P. Usseglio-Polatera, J.-Y. Charcosset, D. Lambrigot, B. Bracht, & E. Chauvet, 2006. Assessment of functional integrity of eutrophic streams using litter breakdown and benthic macroinvertebrates. *Archiv für Hydrobiologie* 165: 105–126.

Lecerf, A., & E. Chauvet, 2008. Diversity and functions of leaf-decaying fungi in human-altered streams. *Freshwater Biology* 53: 1658–1672.

Liess, M., & P. C. Von der Ohe, 2005. Analyzing effects of pesticides on invertebrate communities in streams. *Environmental Toxicology and Chemistry* 24: 954–965.

Olson J. S., 1963. Energy storage and the balance of producers and decomposers in ecological systems. *Ecology* 44: 322-331.

Peters, K., M. Bundschuh, & R. B. Schäfer, 2013. Review on the effects of toxicants on freshwater ecosystem functions. *Environmental Pollution* 180: 324–329.

Reyjol, Y., C. Argillier, W. Bonne, A. Borja, A. D. Buijse, A. C. Cardoso, M. Daufresne, M. Kernan, M. T. Ferreira, S. Poikane, N. Prat, A.-L. Solheim, S. Stroffek, P. Usseglio-Polatera, B. Villeneuve, & W. van de Bund, 2014. Assessing the ecological status in the context of the European Water Framework Directive: Where do we go now? *Science of The Total Environment* 497-498: 332–344.

Roussel, H., E. Chauvet, & J.-M. Bonzom, 2008. Alteration of leaf decomposition in copper-contaminated freshwater mesocosms. *Environmental Toxicology and Chemistry* 27: 637–644.

Schäfer, R. B., T. Caquet, K. Siimes, R. Mueller, L. Lagadic, & M. Liess, 2007. Effects of pesticides on community structure and ecosystem functions in agricultural streams of three biogeographical regions in Europe. *Science of the Total Environment* 382: 272–285.

Schäfer, R. B., M. Bundschuh, D. a Rouch, E. Szöcs, P. C. Von der Ohe, V. Pettigrove, R. Schulz, D. Nugegoda, & B. J. Kefford, 2012a. Effects of pesticide toxicity, salinity and other

environmental variables on selected ecosystem functions in streams and the relevance for ecosystem services. *Science of the Total Environment* 415: 69–78.

Suberkropp, K., & J. B. Wallace, 1992. Aquatic hyphomycetes in insecticide-treated and untreated streams. *Journal of the North American Benthological Society* 11: 165–171.

Tachet, H., P. Richoux, M. Bournaud, & P. Usseglio-Polatera, 2010. Invertébrés d'eau douce : systématique, biologie, écologie. *CNRS Editions*.

University of Hertfordshire, 2013. The Pesticide Properties DataBase (PPDB) developed by the Agriculture & Environment Research Unit (AERU). *University of Hertfordshire, 2006-2013*.

Vörösmarty C.J., P. B. McIntyre, M. O. Gessner, D. Dudgeon, A. Prusevich, P. Green, S. Glidden, S. E. Bunn, C. A. Sullivan, C. Reidy Liermann C. & P. M. Davies, 2010. Global threats to human water security and river biodiversity. *Nature*, 467, 555-561.

Wieder R. K. & G. E. Lang, 1982. A critique of the analytical methods used in examining decomposition data obtained from litter bags. *Ecology* 63, 1636-1642.