



Programme ONGERE

Module D2

Mise à jour, le 08 février 2016

ELISE

Action 4 : Etude des macro-organismes souterrains



DISTRIBUTION SPATIALE DES ESPECES SOUTERRAINES SUR LA PLAINE

La distribution spatiale des invertébrés souterrains s'appuie sur une vaste campagne de collecte d'organismes réalisée en janvier 2012 au niveau de 36 sites (29 puits et 7 sources).

Sur la totalité des sites échantillonnés, une forte abondance a été constatée avec 12 155 individus récoltés. La faune récoltée présente une biodiversité relativement importante avec 19 taxons dont 9 taxons correspondant à des espèces souterraines strictes, à savoir au moins 4 espèces du genre *Niphargus*, 2 espèces du genre *Salentinella* et 2 espèces d'ostracodes souterrains qui ne sont pas décrites à nos jours.

La taxonomie (i.e. l'identification des différentes espèces composant un peuplement) des organismes souterrains est une science complexe et encore en développement. Traditionnellement, la taxonomie se fait selon des critères morphologiques et/ou anatomiques. Toutefois, depuis quelques années, une approche alternative d'identification a vu le jour, basée sur le séquençage de la molécule d'ADN, le principe étant que chaque espèce possède une séquence d'ADN unique. Par analogie aux systèmes de codes-barres l'approche employée a été nommée la méthode du code barre à ADN.

Pour les besoins du projet ELISE, en termes d'amélioration des connaissances sur la taxonomie des macro-organismes souterrains de la plaine de l'Ariège, cette méthode d'identification moléculaire s'est avérée être puissante et a permis d'identifier des individus dont seuls des fragments étaient disponibles (i.e. ne permettant pas l'identification visuelle). Cette méthode appliquée aux organismes de la zone d'étude (354 individus) a permis de réduire de 40% le nombre d'individus restés non identifiés (de 103 à 65 individus) mais aussi d'affiner certaines identifications visuelles incertaines. Les 65 individus non identifiés sont ceux où l'amplification de leur ADN a complètement échoué.

Ces identifications moléculaires ont permis de finaliser deux indicateurs importants de la structure des communautés souterraines, à savoir l'abondance du peuplement et sa richesse spécifique (Illustration 1).

La distribution de la faune souterraine sur la zone d'étude met clairement en évidence le contraste existant entre les puits situés en bordure de l'Hers Vif, qui apparaissent plus peuplés et plus diversifiés que ceux situés en bordure de l'Ariège. En effet, le long de l'Ariège de nombreux puits n'abritent pas ou peu de faune stygobie.

Les améliorations apportées par les identifications moléculaires (en particulier sur le genre *Niphargus*) permettent de mieux préciser la distribution des cinq espèces les plus fréquemment récoltées en 2012 (Illustration 2). Ainsi, les *Niphargus* du groupe *kochianus* et les deux espèces du genre *Salentinella* sont présents sur l'ensemble du territoire prospecté. Par contre, les *Niphargus* des groupes *ciliatus* et *foreli* ont principalement été collectées dans la plaine alluviale de l'Hers Vif y compris dans des puits situés en aval de cette plaine, dans un secteur d'intense activité agricole.

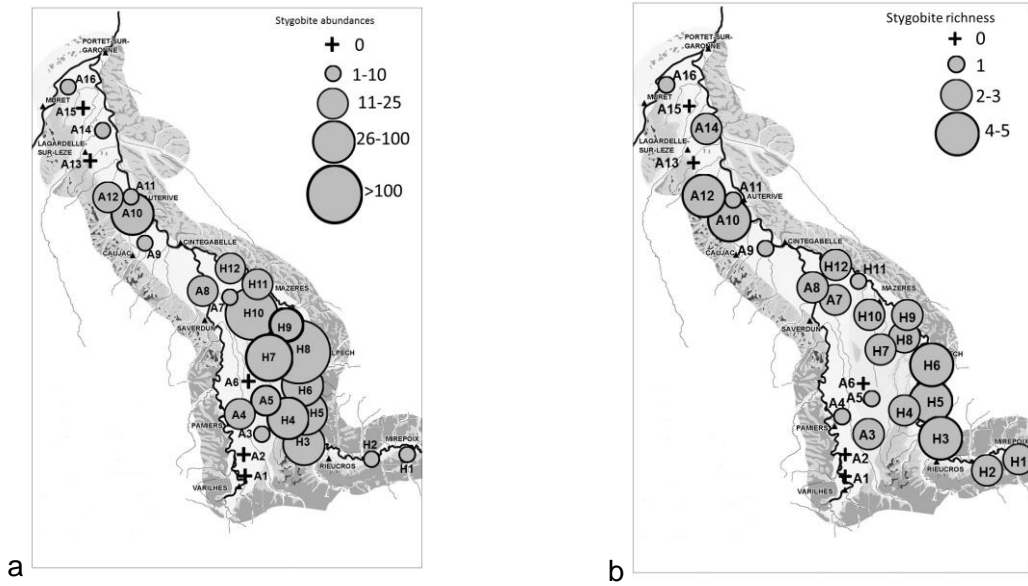


Illustration 1 - Répartition spatiale de l'abondance (a) et de la richesse spécifique (b) en invertébrés stygobies dans le secteur d'étude.

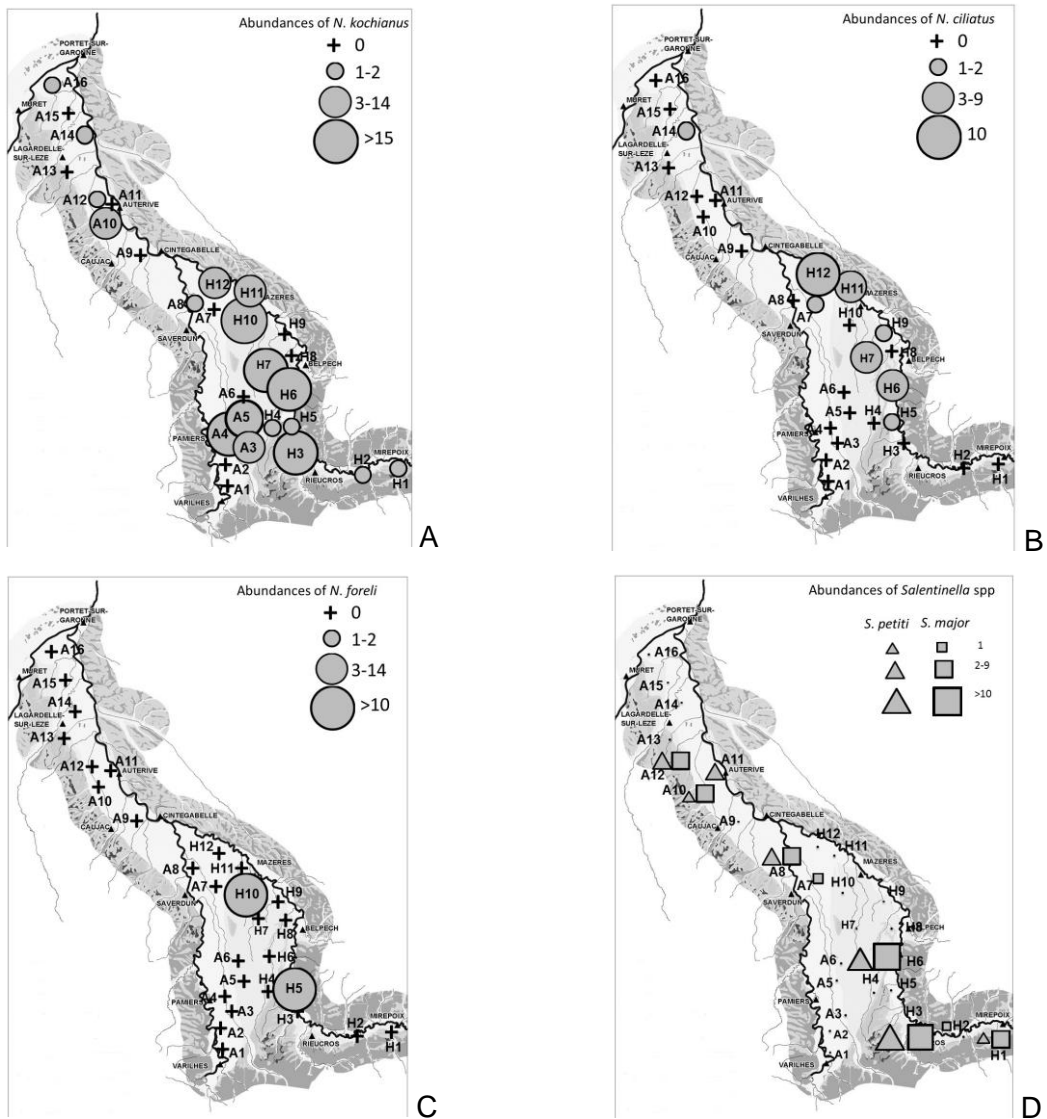


Illustration 2 - Répartition spatiale de *Niphargus gr kochianus* (A), *N. ciliatus* (B), *N. foreli* (C) et des deux espèces du genre *Salentinella* (D) dans le secteur étudié

EXPOSITION IN SITU DE SENTINELLES

Afin d'évaluer la qualité des eaux souterraines de la nappe de l'Ariège, des invertébrés ont été utilisés comme organismes sentinelles. A défaut d'espèces souterraines dont le nombre d'individus récoltés était insuffisant pour envisager un encagement, cette approche a été réalisée en septembre 2012 puis en juillet 2013 en utilisant 2 espèces de surface locale également présentes à l'interface eau de surface - eau souterraine, à savoir *Gammarus fossarum* lors de la première campagne et *Gammarus ariegi* lors de la seconde.

Les individus ont été encagés dans des tubes métalliques (Illustration 3), et incubés dans 18 puits répartis sur la plaine selon un gradient d'activité agricole, sachant que la qualité de l'eau était analysée en parallèle par le BRGM. Au bout d'une semaine d'incubation, les cages ont été récupérées et le taux de survie des sentinelles calculé.



Illustration 3 - Système d'encagement des sentinelles exposées in situ

Les taux de survie étant peu explicatifs de la qualité de la nappe dans les dix puits étudiés, un Indice Ecophysiological (EPI) a été calculé (Illustration 4). Cet indice combine les taux de survie à l'état des réserves énergétiques des sentinelles. Les teneurs en réserve des sentinelles étant différentes en 2012 (période de basses eaux) et en 2013 (hautes eaux), les valeurs de l'indice ont été rapportées à celles obtenus sur le lot témoin conservé au laboratoire et non exposé à un toxique.

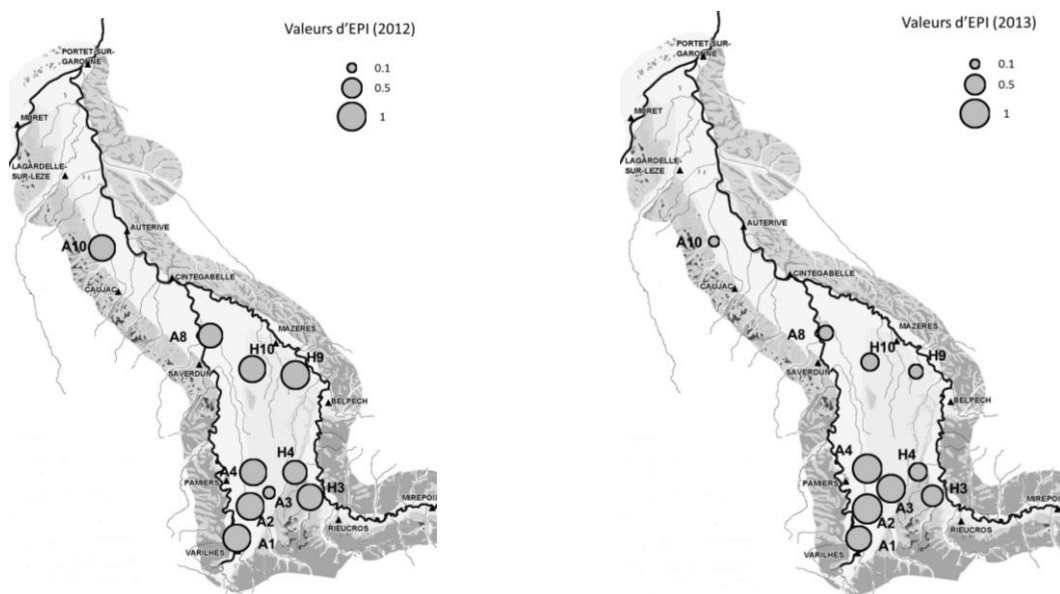


Illustration 4 - Valeur de l'Indice Ecophysiological (EPI) traduisant la survie et l'état de santé des Crustacés sentinelles exposés dans 10 puits de la plaine de l'Ariège en 2012 (période de basses eaux) et 2013 (période de hautes eaux). Les valeurs de l'indice sont exprimées en ratio à un lot témoin exposé au laboratoire à une eau sans toxique et varient donc entre 0 et 1.

Il apparaît que les activités humaines induisent une détérioration des qualités environnementales de la nappe de l'Ariège se traduisant par une dégradation de l'état de santé des crustacés sentinelles implantés dans les puits. Ce constat est plus marqué dans la partie centrale de la nappe que celle très amont. Cette dégradation est aussi plus marquée en 2013 (en période de hautes eaux) associée à des concentrations mesurées *in situ* plus importantes. Le choix d'utiliser des invertébrés sentinelles *in situ* semble avoir été pertinent car l'état de santé de ces organismes en 2013 souligne que l'environnement rencontré par ces animaux dans les puits situés en bordure de l'Ariège et au nord de la zone d'étude, était plus stressant et sans doute de moindre qualité que dans le secteur proche de l'Hers Vif.

Le gradient sud-nord observé pour les communautés échantillonnées dans les puits et pour l'état de santé des organismes sentinelles ne semble pas directement lié à la présence de produits phytosanitaires et leurs métabolites dans les eaux souterraines, mais pourrait être lié à la combinaison de plusieurs facteurs, dont les apports en pesticides ne seraient qu'un élément venant réduire la viabilité des populations.

TESTS DE TOXICITE EN LABORATOIRE

Afin d'évaluer les effets du S-métolachlore et de ses métabolites ESA métolachlore et OXA métolachlore sur les macro-organismes souterrains, des expérimentations en laboratoire (bioessais) ont été réalisées pour déterminer leur toxicité aiguë (période d'exposition maximale de 7j). Ces bioessais consistent à exposer des individus à des concentrations croissantes de la molécule étudiée et calculer, pour une période d'exposition donnée, la concentration causant la mortalité de 50% des individus exposés.

Dans cette étude, cinq espèces de crustacés sont concernées dont trois espèces de surface (les amphipodes *Gammarus pulex* et *Gammarus fossarum* et l'isopode *Asellus aquaticus*) et deux espèces souterraines (les amphipodes *Niphargus rhenorhodanensis* et *Niphargus ciliatus*). Le choix des espèces de surface est basé sur (1) leur utilisation régulière dans les tests écotoxicologiques et les études sur la qualité des eaux de surface et (2) selon un gradient d'exigence écologique. Les deux espèces souterraines ont été choisies pour leurs caractéristiques d'organismes stygobies (faible sensibilité à l'anoxie, métabolisme réduit).

Les tests de toxicité aiguë réalisés en laboratoire pour le S-métolachlore notamment montrent que les espèces souterraines sont plus résistantes que les espèces de surface, ce qui pourrait être dû à leur faible métabolisme.

Des expérimentations complémentaires réalisées pour évaluer l'effet synergétique ou antagoniste du S-métolachlore avec la dééthylatrazine, métabolite de l'atrazine ont été réalisées. Le choix de ce mélange est basé sur la présence presque ubiquiste de la dééthylatrazine dans les eaux souterraines de la plaine. Il apparaît que la toxicité de ces deux molécules mélangées est très faible pour les quatre espèces de crustacés aquatiques considérées dans cette étude. Elle est toutefois variable selon les espèces.

Les teneurs observées dans la nappe de l'Ariège ne devraient pas induire de mortalité aiguë de la faune souterraine, mais peut-être induire des effets chroniques et un affaiblissement des populations.