



**BIOdiversité et FONctionnalité du Zooplancton :
test du potentiel Indicateur de la qualité de l'Eau.**

BIOFOZI - Rapport final

Porteur du projet : (personne, structure, coordonnées)

Pr Michèle Tackx. Université Paul Sabatier, (Toulouse III).

Laboratoire Ecologie Fonctionnelle et Environnement (EcoLab). UMR 5245 CNRS-UPS-INPT (<http://www.ecolab.ups-tlse.fr/>)

Partenaires du projet :

Pr Sami Souissi. Université Lille I.

Laboratoire d'Océanologie et de Géosciences (LOG) UMR 8187 CNRS-Lille 1-ULCO (<http://log.univ-littoral.fr>)

Pr Baghdad Ouddane. Université Lille I.

Laboratoire LASIR UMR 8516. Equipe Physico-Chimie de l'Environnement, Université Lille 1 (<http://lasir.univ-lille1.fr>).

Pr Patrick Meire. Université d'Anvers (Belgique).

Ecosystem management Group(ECOBE)

(patrick.meire@uantwerpen.be)

Avec la participation de :

M. Le Coz, S. Chambord, F. Azémar, D. Dumoulin, S. Net, J. Ovaert, E. Buffan-Dubau, R. Fernandez, S. Lamothe, T. Maris, F. Julien, S. Rabodonirina, C. Odorico, R. Saur, D. Van Pelt, P. De Lee.

Durée du projet : 3 ans

Date de début : 01 01 2014

Date de fin : 31 12 2016

Préambule : La finalité de l'appel à projets est « de renforcer les connaissances pour élaborer des outils (économiques, techniques, écologiques) adaptés à différentes catégories d'acteurs du Nord-Pas de Calais afin de réduire les impacts négatifs des activités humaines (fragmentation, pollution, destruction, changement climatique...) sur la biodiversité et faciliter sa préservation ».

La Région est donc très attachée à la valorisation des résultats de ces projets sur tout le territoire afin de faciliter une appropriation des enjeux liés à la biodiversité, de lever des verrous, de diversifier et d'améliorer les actions menées en région en faveur de la biodiversité.

Sauf indication contraire, le présent rapport est soumis à la licence Creatives Commons CC-by-sa

La Région Nord-Pas-de-Calais en bref - Site Internet : www.nordpasdecals.fr

Le Conseil régional Nord - Pas de Calais a adopté, en séance plénière du 26 septembre 2013, les volets Climat et Biodiversité de son Schéma d'Aménagement et de Développement Durable du Territoire (SRADDT). En matière de Biodiversité, la Région a identifié cinq objectifs stratégiques : restaurer les services fournis par les écosystèmes grâce à la Trame Verte et Bleue (TVB), accélérer la recolonisation écologique des milieux, soutenir la recherche, la connaissance, la formation, construire la transition avec les habitants, construire une gouvernance adaptée avec l'ensemble des acteurs. Elle conduit également un Plan forêt visant le doublement de la forêt régionale d'ici 30 ans et une politique de restauration et de réintroduction d'espèces.

Sa politique en faveur de la recherche dans le domaine de l'environnement porte sur la préservation de la biodiversité, la lutte contre le changement climatique avec l'ADEME, Santé - Environnement, l'agriculture. La Région souhaite également promouvoir la constitution d'un collectif de chercheurs et d'experts sur les effets du changement climatique à une échelle euro-régionale.

La Fondation pour la Recherche sur la Biodiversité en bref - Site Internet : www.fondationbiodiversite.fr

La FRB a pour objet de favoriser le développement, le soutien et l'animation des activités de recherche sur la biodiversité dans les domaines biologique, écologique, socio-économique, juridique et des activités associées de diffusion des résultats.

La FRB réunit les organismes publics de recherche, les associations et les organisations non gouvernementales environnementales, les entreprises, les gestionnaires d'espaces et de diversité biologique ainsi que les collectivités territoriales pour relever les défis scientifiques de la biodiversité.

Le Groupement d'Intérêt Scientifique Biodiversité Nord-Pas de Calais en bref

Un GIS dédié spécifiquement à la biodiversité en région Nord-Pas de Calais s'est créé en 2010 à l'initiative du Conseil régional, avec le souhait de renforcer les recherches en conservation de la biodiversité en région, en développant les coopérations scientifiques interdisciplinaires (Ecologie, Sciences humaines, Science du paysage) et en associant des organismes de recherche et des partenaires non universitaires. Le GIS regroupe actuellement 11 laboratoires de recherche et 5 partenaires non académiques (acteurs de connaissance, de gestion de la biodiversité).

Un triple partenariat pour soutenir la Recherche sur la Biodiversité en Nord-Pas de Calais

La Région, la FRB et le GIS partagent une même ambition visant à mobiliser la recherche pour mieux protéger, gérer et valoriser la biodiversité, chacun avec un angle d'approche spécifique et complémentaire et se sont accordés autour des axes d'un appel à projets. Cet appel visait le soutien de projets de recherche rassemblant des acteurs de la recherche et des acteurs socio-économiques, des collectivités locales et des acteurs de la société civile (associations, gestionnaires...) travaillant dans le champ de la biodiversité. Elles s'associent désormais pour la valorisation des travaux de recherche.

Résumé grand public

BIOdiversité et FONctionnalité du Zooplancton : test du potentiel Indicateur de la qualité de l'Eau.

Dans les colonnes d'eau des systèmes aquatiques, appelé **le pélagos**, les autotrophes sont des algues unicellulaires, qui constituent **le phytoplancton**. Ces micro-algues, qui font quelques à quelques dizaines de micromètre en taille (1 micromètre = 1 millième d'un millimètre) sont donc à la base de la **chaîne trophique**. Elles sont consommées par **le zooplancton**, qui va à son tour être mangé par les larves de certaines espèces de poissons adultes (Fig.1).

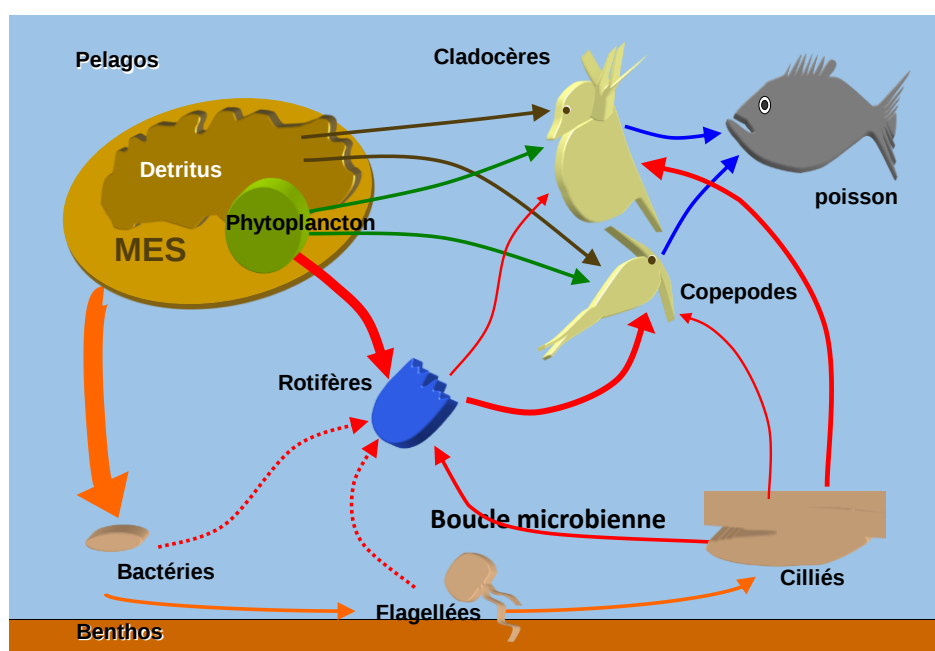


Fig. 1.
Fonctionnement
de la colonne
d'eau d'un
écosystème
aquatique.
Dessin : F.
Azémar.

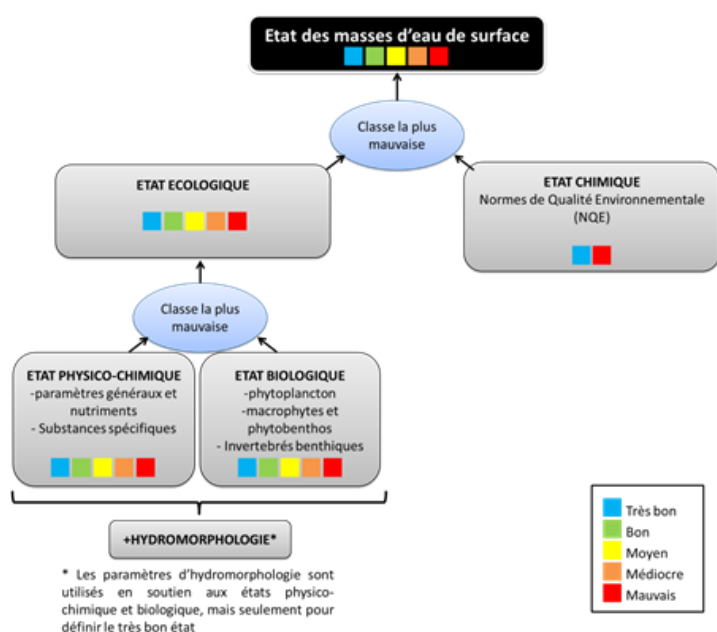
Parmi les organismes zooplanctoniques, on distingue **le mésozooplancton**, qui regroupe les **rotifères** et des crustacés, comme les **cladocères** et les **copépodes** (Fig. 2). Le **microzooplancton**, qui regroupe des organismes de quelques dizaines à une centaine de µm, est constitué par des flagellés hétérotrophes et des ciliés), qui mangent donc de la matière organique. Les organismes qui se trouvent dans l'eau et qui échappent à la consommation par le **niveau trophique** supérieur, vont tôt ou tard mourir, et devenir de la matière organique morte, ou **détritus**. Ce détritus est recyclé par les **bactéries** hétérotrophes, qui en font de la matière inorganique par le processus de reminéralisation et la matière inorganique est ainsi de nouveau mise à disposition du phytoplancton pour la production primaire. Les bactéries sont à leur tour mangées par le microzooplancton, qui est, comme le phytoplancton, consommé par le mésozooplancton. Aussi bien le microzooplancton que le mésozooplancton peuvent aussi se nourrir de détritus, bien qu'ils préfèrent généralement des proies vivantes. On a donc, un **réseau trophique**, plutôt qu'une simple chaîne trophique (Fig 1).

La Directive Cadre sur l'Eau (DCE), mise en place par la communauté Européenne en 2000 suit la qualité de l'eau dans les eaux de surfaces, souterraines littorales en Europe.

L'évaluation de l'état des masses d'eau se fait à partir de l'évaluation de l'Etat écologique et de l'Etat chimique, sur le principe de l'élément déclassant (one-out/all-out : c'est la classe la plus mauvaise qui détermine l'état général). Ainsi, le bon état des masses d'eau nécessite l'atteinte à la fois d'un bon état chimique et d'un bon état écologique.



Fig. 2. Exemples de spécimens de zooplancton du bassin versant de l'Escaut : copépodes calanoïdes (a), copépodes cyclopoïdes (b), cladocères (c: *Chydorus* sp. ; d: *Bosmina* sp.), et rotifères (e: *Brachionus calyciflorus*, f: *Keratella cochlearis*). Photos: Akoko Claudine Sossou.



Pour le Bassin Artois-Picardie, l'Agence de l'Eau Artois-Picardie (AEAP; <http://www.eau-artois-picardie.fr/>), responsable de ce suivi, effectue régulièrement des mesures sur un réseau de stations réparties sur le bassin. Vous pouvez consulter les résultats de ce suivi directement sur le lien : <http://www.eau-artois-picardie.fr/qualite-de-leau-donnees-sur-leau/visualiser-et-telecharger-les-donnees>.

Fig. 3. Système d'évaluation de l'Etat des masses d'eau par la DCE. Schéma : M. Le Coz.

Plusieurs cours d'eau suivis par l'AEAP font partie du **bassin versant** (l'aire drainée) de **l'Escaut**. Ce cours d'eau prend sa source à Gouy le Câtelet, en France (49°59'13"N, 3°15'59"E), traverse la Belgique, et se jette dans la mer du Nord au niveau de Flessingue (Vlissingen en néerlandais) aux Pays-Bas (51°25'51"N, 3°31'44"E) (Fig 4a).

Pour l'évaluation de l'état biologique du pélagique, le phytoplancton est pris en compte, mais pas le zooplancton. Contrairement aux lacs, les systèmes **d'eau courante**, comme les rivières, sont généralement considérés comme pauvres en zooplancton, parce que l'eau ne reste pas suffisamment longtemps dans un tronçon de rivière pour que le zooplancton puisse se développer.

Dans le cadre du projet '**Biodiversité**' financé par la Région Nord Pas de Calais, le projet BIOFOZI a étudié le zooplancton des cours d'eau du bassin versant amont de l'Escaut avec pour but de:

- inventorer, pour la première fois, les communautés et la diversité du mésozooplancton dans les cours d'eau du bassin versant amont de l'Escaut
- comparer les résultats en termes de classement et regroupement des stations étudiées à base des données DCE, des mesures détaillées des polluants : éléments traces (Cd, Pb, Zn, Ni, Cu...), Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques, (HAP), Polychlorobiphenols (PCB), et Phtalates ; (PAE) et des communautés zooplanctoniques
- tester la tolérance d'un copépode 'modèle', *Eurytemora affinis*, dont on connaît bien la biologie, aux polluants présents dans l'eau des stations à Aire-sur-la-Lys et Erquinghem.
- étudier l'impact du mésozooplancton sur le phytoplancton

5 campagnes d'échantillonnages ont été réalisées : en avril 2013, avril 2014 et septembre 2014, avril et juin 2015.

Les résultats montrent que l'état des stations suivi par la DCE varie entre moyen et mauvais (Fig. 4a). Contrairement à l'idée reçue qu'il n'y a pas de zooplancton dans les rivières, **22 taxa de rotifères et 5 taxa de cladocères** ont été observés sur les stations BIOFOZI, en abondances comparables à celles trouvées dans des lacs. Cette présence de mésozooplancton s'explique probablement par le fait que plusieurs des cours d'eau étudiés sont canalisés et leur débit régulé.

Par contre, la Fig. 4b. montre qu'il n'y a pas plus de mésozooplancton dans les stations en état moyen selon la DCE que dans celles en état médiocre ou mauvais. Des résultats similaires ont été obtenus en comparant la répartition et l'abondance du zooplancton avec le degré de pollution. Il est probable que les taxons de zooplancton qui vivent dans les cours d'eau du bassin versant de l'Escaut sont adaptés à la qualité de l'eau telle qu'elle se présente.

Au printemps, les rotifères sont largement dominants en abondance, en été et en automne, il y a plus de copépodes et de cladocères, même si les rotifères restent dominants. Pour les copépodes uniquement *Eurytemora affinis* a été déterminé. Cette espèce, considérée comme potentiellement invasive dans les eaux douces, s'est récemment fortement développée dans la partie estuarienne d'eau douce de l'Escaut. *E. affinis* est présent sur plusieurs stations BIOFOZI, mais en abondances limitées (maximum 270 individus par m³). Les tests de tolérance ont montré que *E. affinis* est freiné dans sa production d'œufs par l'eau d'Aire-sur-la-Lys et d'Erquinghem, ce qui peut expliquer qu'il n'y a pas de prolifération de cette espèce.

Le broutage du zooplancton a été mesuré par des expériences d'incubation (Fig. 5). Le principe est de quantifier la différence en concentration de la **Chlorophylle a** du phytoplancton après incubation avec (fraction filtrée sur 250 µm), et sans mésozooplancton (fraction < 50 µm). Cette procédure mesure l'activité de broutage par la communauté totale de zooplancton de taille entre 50 et 250 µm (donc essentiellement le microplancton) sur la biomasse totale de phytoplancton.

En dosant en plus des concentrations de pigments marqueurs, spécifique pour certains groupes d'algues (par exemple fucoxanthine pour les diatomées, lutéine pour les cryptophytes), on peut mesurer si certaines algues sont particulièrement sélectionnées par le zooplancton.

Les résultats ont montré que le zooplancton consomme de 23 à 228% de la biomasse phytoplanctonique par jour et sélectionne particulièrement algues Chlorophytes (algues vertes, Fig. 5 bc) et les Cryptophytes. Ces taux de broutage sont importants mais ne suffisent pas à surexploiter le phytoplancton puisque celui-ci présente des taux de croissance qui compensent cette prédation. Le réseau trophique de ces cours d'eau semble donc fonctionner de façon durable.

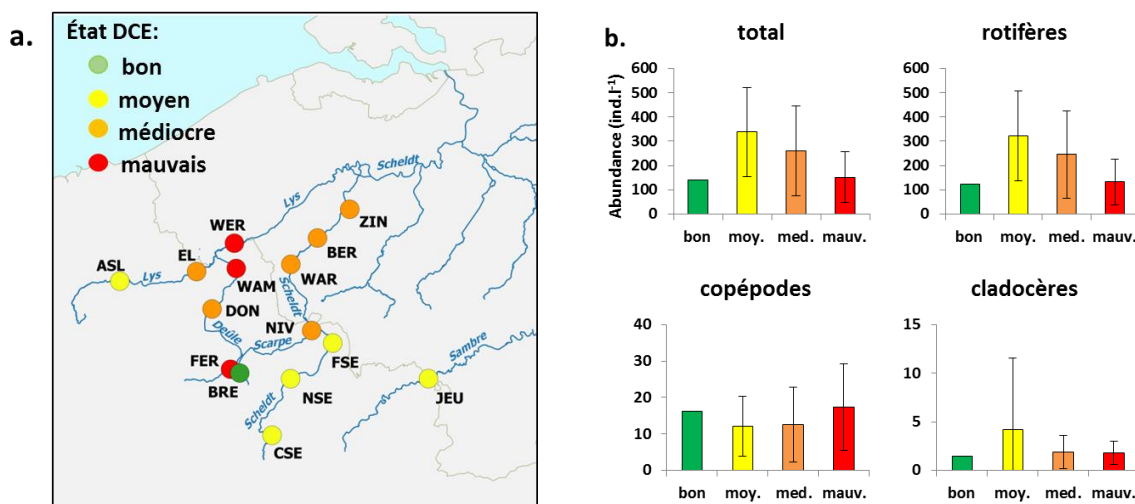
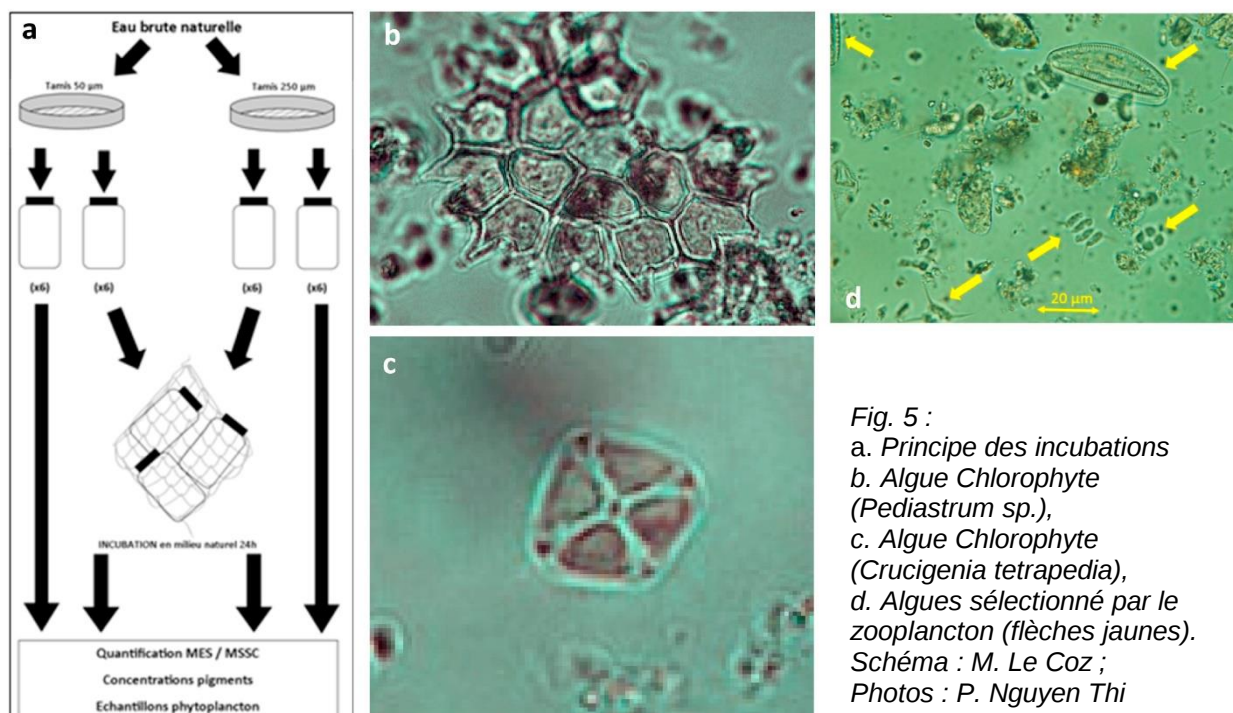


Fig. 4a. Etat des eaux sur des stations BIOFOZI suivant les critères DCE. b. Abondance des groupes d'organismes zooplanctoniques, moyennée par stations de même état DCE.



Un livret « Partez à la découverte du zooplancton » est en cours de rédaction et sera prochainement disponible sur demande auprès de l'AEAP.

Table des matières

I. Rappel des objectifs	8
II. Description générale des activités et résultats	8
II.1. Le déroulement du projet, les méthodes utilisées	9
II.1.1. Campagnes et méthodes d'échantillonnage (Tous)	9
II.1.1.1. Facteurs environnementaux (EcoLab, LASIR)	9
II.1.1.2. Abondance du zooplancton (EcoLab)	10
II.1.1.3. Activité de broutage du zooplancton (EcoLab)	10
II.2. Analyses en laboratoire	11
II.2.1. Facteurs environnementaux généraux et polluants (LASIR, EcoLab, ECOBE)	11
II.2.2. Détermination et comptage du zooplancton (EcoLab)	12
II.2.3. Calcul de l'impact de broutage sur les communautés phytoplanctoniques.	12
II.2.4. Expériences de tolérance (LOG)	14
II.2.4.1. Rappel de la problématique	14
II.2.4.2. Mise au point du protocole expérimental	14
II.2.4.3. Effets du cocktail de polluants sur le cycle de vie complet du copépode <i>Eurytemora affinis</i> .	15
II.3. Analyses des données et présentation des résultats (TOUS)	17
II.3.1. Etude de la variabilité spatio-temporelle des communautés	17
II.3.2. Réponse des communautés aux conditions environnementales totales	18
II.4. Résultats	21
II.4.1. Campagnes d'échantillonnages	21
II.4.1. Composition, diversité et abondance des communautés zooplanctoniques	23
II.4.2. Distribution spatio-temporelle des communautés zooplanctoniques	25
II.4.3. Lien entre les communautés zooplanctoniques et les facteurs environnementaux généraux	27
II.4.4. Lien entre les communautés zooplanctoniques et les facteurs environnementaux généraux et la pollution	29
II.4.4.1. Lien entre les communautés zooplanctoniques et la classification DCE des sites	29
II.4.4.2. Lien entre la communauté zooplanctonique et les conditions physico-chimiques générales du milieu.	30
II.4.4.3. Lien entre la communauté zooplanctonique et la pollution du milieu.	32
II.4.5. Etude du zooplancton sur l'ensemble de l'Escaut	35
II.4.6. Expériences de tolérance	37
II.4.7. Activité trophique du zooplancton dans le bassin versant.	41
II.5. Discussion et Conclusion	44
III. Valorisation des résultats	48
III.1. Valorisation scientifique	48
III.2. Interactions avec les acteurs régionaux.	51
III.3. Perspectives au-delà du projet	52
IV. Remerciements	54
V. Références	55

I. Rappel des objectifs

Les objectifs du projet sont (1) d'inventorier l'abondance et la diversité du zooplancton d'une sélection de cours d'eau du bassin de l'Escaut, (2) de les analyser d'une façon fonctionnelle (lien entre qualité d'eau en terme de pollution, phytoplancton suivi par la DCE et d'autres paramètres environnementaux) et (3) de tester la performance d'une évaluation de l'état d'un système aquatique sans et avec inclusion du compartiment zooplanctonique et en considérant des aspects fonctionnels au niveau de l'interaction phytoplancton - zooplancton.

Considérant le manque de données sur les communautés zooplanctoniques dans les rivières concernées par le projet, ainsi que la problématique de contamination de la région, le projet BIOFOZI a retenu les questions suivantes :

- 1) Quelle est l'abondance et la diversité des communautés zooplanctoniques ?
- 2) Quelle est la part de l'abondance et de la diversité du phytoplancton qui est expliquée par l'abondance et la diversité de la communauté zooplanctonique ?
- 3) Comment se comparent les caractéristiques (abondance, diversité) des populations zooplanctoniques dans les cours d'eau en amont du bassin versant de l'Escaut avec celles observées en aval ?
- 4) Y-a-t-il, dans des eaux courantes de plaine, des informations concrètes, utiles à l'évaluation et à la compréhension de la qualité de l'eau et de l'état du système, que l'on puisse obtenir par l'étude de l'abondance, de la diversité et des aspects de condition du zooplancton (conditions morphométriques et nutritionnelles) ? Quelle est la plus-value de la prise en compte du zooplancton par rapport au système classique d'évaluation de la qualité de l'eau avec notamment les indicateurs de la DCE ?

-

II. Description générale des activités et résultats

La contribution de chacun des partenaires est donnée entre parenthèses pour les différentes activités. La section 'Résultats' rapporte les résultats et les interprétations nécessaires à la compréhension de la suite du texte. La section 'Discussion et conclusions' est structurée autour les questions formulées dans la section 'Rappel des objectifs'. Dans cette section, les interprétations plus approfondies et générales des résultats, les problèmes rencontrés, les leçons tirées du projet et les recommandations sont abordés.

II.1. Le déroulement du projet, les méthodes utilisées

II.1.1. Campagnes et méthodes d'échantillonnage (Tous)

II.1.1.1. Facteurs environnementaux (EcoLab, LASIR)

Les mesures de facteurs environnementaux sur le terrain (température de l'eau, concentration en oxygène dissous, pH, etc.) ont été réalisées à l'aide d'une sonde multi paramètres. Des échantillons d'eau pour le dosage d'autres caractéristiques du milieu (concentrations des Matières en Suspension (MES), de la Matière Sèche Sans Cendres (MSSC) et de la Chlorophylle *a* (Chl*a*)) et d'autres facteurs environnementaux (concentrations des nutriments, concentrations en polluants dans la phase particulaire et dissoute) ont été pris en sub-surface.

Pour l'analyse des métaux traces dans l'eau, les échantillons ont été prélevés à l'aide de bouteilles en plastic à une profondeur d'au moins 30cm. Deux aliquots de 20 mL ont directement été filtrés à 0.45 µm (acétate de cellulose) puis acidifiés à 2 % (v/v) à l'aide d'acide nitrique ultrapur (Optima grade, Fisher Scientific). Ces échantillons sont destinés aux analyses de métaux dissous. Le restant de l'échantillon a été filtré (0.45 µm, acétate de cellulose) au laboratoire dans le but de déterminer les métaux dans les matières en suspension.

En ce qui concerne les micropolluants organiques, l'échantillonnage a été réalisé à l'aide de bouteilles en verre ambré. Les échantillons ont été filtrés le jour même de retour au laboratoire (0.7 µm, fibre de verre) pour la détermination des concentrations en micropolluants en phase dissoute et particulaire. Sur le terrain, une filtration (0.7 µm, fibre de verre) sur un aliquot de 20 mL a été destinée à la détermination de la concentration en carbone organique total.

Les sédiments de surface ont été prélevés à l'aide d'une benne Ekman. De retour au laboratoire, les échantillons de sédiments ont été séchés à température ambiante sous hotte à flux laminaire, puis ont été broyés et tamisés avant extraction et analyse.

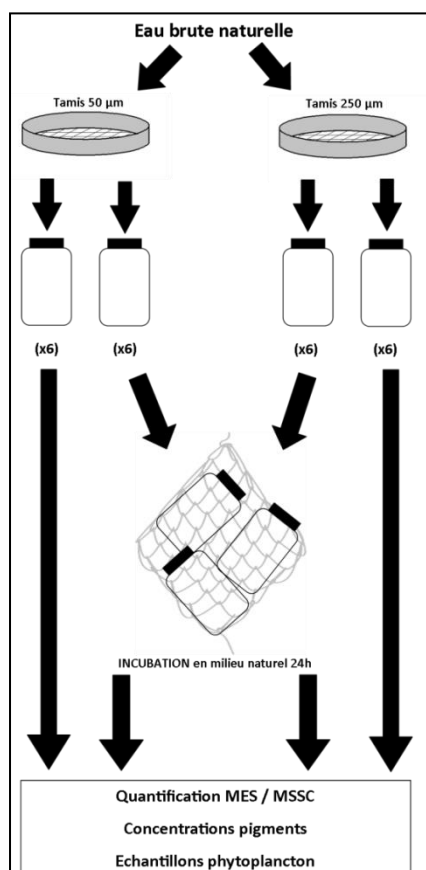
Des données sur les concentrations de polluants ont également été mises à disposition par l'Agence de l'Eau Artois-Picardi (AEAP) pour la période de mai 2013 (liste en annexe 1) et par la Vlaamse Milieu Maatschappij (VMM) et le Service Public de Wallonie (SPW) (cf. tableau 1). Pour cette campagne, les polluants n'ont pas été analysés.

II.1.1.2. Abondance du zooplancton (EcoLab)

Un échantillonnage en surface a été effectué à chaque station pour l'abondance du zooplancton en filtrant 50 litres d'eau à travers un filet de 50 µm de maille. Le zooplancton récolté a été fixé au formol (4% concentration finale). Cette façon d'échantillonner capte la totalité du 'mésozooplancton' (= tous les stades de copépodes, cladocères et rotifères) mais pas le 'microzooplancton' (ciliés, nanoflagellés hétérotrophes, etc.). Il est à noter que les rotifères sont parfois considérés comme microzooplancton.

II.1.1.3. Activité de broutage du zooplancton (EcoLab)

Le broutage du zooplancton a été mesuré par des expériences d'incubation, représentées schématiquement en Fig. 2. Le principe est de quantifier la différence en concentration de marqueurs taxonomiques pigmentaires du phytoplancton après incubation avec (fraction filtrée sur 250 µm, afin d'éliminer des débris de végétaux qui pourraient intervenir avec les analyses pigmentaires) et sans mésozooplancton (fraction < 50 µm). Cette procédure mesure l'activité de broutage par la communauté totale de zooplancton de taille entre 50 et 250 µm (donc essentiellement le microplancton).



Une partie de l'eau pompée en sub-surface a été filtrée sur un tamis de 250 µm de taille de maille. Cette eau est ensuite transvasée à hauteur de 900 mL par flacon dans des flacons plastique de contenance 1 litre. La moitié de ces flacons a été incubée pendant 24 heures (6 répliques), l'autre moitié (6 répliques) a été utilisée pour réaliser des prélèvements directement, afin de fournir les informations sur les conditions au début de l'expérience d'incubation. Des filtrations sur GF-C sont destinées aux analyses pigmentaires (calcul de la concentration en pigments caractéristiques du phytoplancton) et à la quantification de la Matière En Suspension (MES) et de la Matière Sèche Sans Cendres (MSSC). Des échantillons de 60 mL d'eau sont également conservés dans du Formol (concentration 4%), dans le but de caractériser quantitativement et qualitativement le phytoplancton.

Fig. 2. Protocole d'incubation pour quantifier la pression de broutage par la communauté zooplanctonique sur le phytoplancton.

L'autre partie de l'eau pompée est quant à elle filtrée sur un tamis de 50 µm de taille de maille. Cette eau, contenant le phytoplancton mais pas le zooplancton dont la taille est supérieure à 50µm, est également destinée en partie à l'incubation (6 répliques) et en partie aux analyses directes (6 répliques), de la même manière que l'eau filtrée à 250 µm.

L'incubation est réalisée en immergeant les 12 flacons directement dans le cours d'eau à l'aide d'un filet laissant passer la lumière et lesté de manière à ce que les flacons soient soumis aux conditions naturelles de lumière et d'agitation de l'eau.

II.2. Analyses en laboratoire

II.2.1. Facteurs environnementaux généraux et polluants (LASIR, EcoLab, ECOBE)

Le dosage de la MES, MSSC et des concentrations en nutriments a été fait selon les protocoles du plateau d'analyse EcoLab.

Les concentrations en métaux majeurs (Na, K, Ca, etc.) ont été déterminés par ICP-AES (Varian Vista Pro, visée axiale), tandis que les éléments traces (Cd, Pb, Zn, Ni, Cu...) ont été dosés par ICP-MS (Thermo X-Series).

L'estimation de la fraction métallique disponible et potentiellement accessible par le biota (biodisponible) ainsi que la détermination des sulfures permet d'introduire les notions de mobilité et disponibilité des métaux qui seront abordées grâce au rapport SEM/AVS (Simultaneous Extracted Metas/Acid Volatil Sulfide) qui traduit la capacité des particules (MES ou sédiments) à piéger ou non les ETM (Cd, Cu, Ni, Pb, Zn, Hg, etc.) au travers des phases sulfurées.

Les concentrations en carbone organique total (COT) ont été déterminées à l'aide d'un COT-Mètre (Shimadzu, TOC V_{CSH}).

Les analyses de micropolluants organiques, 16 molécules dans la famille des Hydrocarbures Aromatiques Polycyclique (HAP) ainsi que 18 molécules de leur dérivés méthylés (Me-HAP), 28 Polychlorobiphényles (PCB), 6 Phtalates, 19 pesticides, 10 résidus de médicaments et 4 bisphénols, ont été réalisées par chromatographie en phase gazeuse couplée avec un spectromètre de masse (GC-MS) (Varian 3900 / Saturn 2000). En ce qui concerne la concentration en micropolluants dissous, les échantillons ont été préparés par extraction sur phase solide (SPE) à partir des échantillons d'eau filtrés (500 mL) et de cartouches HLB et C₁₈ préalablement pré-conditionnées. Pour la détermination des teneurs en micropolluants dans les phases particulières et sédimentaires, les extraits ont été obtenus par extraction sous fluide pressurisé (ASE 200, Dionex).

Le dosage des concentrations en pigments du phytoplancton des échantillons du milieu et des expériences d'incubation a été fait par HPLC, selon la méthode de Wright et al. (1991). Les détails de la méthode sont donnés par Majdi et al. (2012).

II.2.2. Détermination et comptage du zooplancton (EcoLab)

Au laboratoire, les échantillons de zooplancton sont colorés à l'érythrosine afin de faciliter la détection des organismes. Un ou plusieurs sous-échantillon(s) est/sont analysé(s) sous loupe binoculaire (agrandissement 90 X) et les différents taxons sont déterminés et énumérés. Un minimum de 100 individus au total est observé. Pour les rotifères, plusieurs taxons ont été déterminés au genre, voire à l'espèce. À part *E. affinis*, les copépodes n'ont été déterminés qu'au niveau Calanoides, Cyclopoides et Harpacticoides.

II.2.3. Calcul de l'impact de broutage sur les communautés phytoplanctoniques.

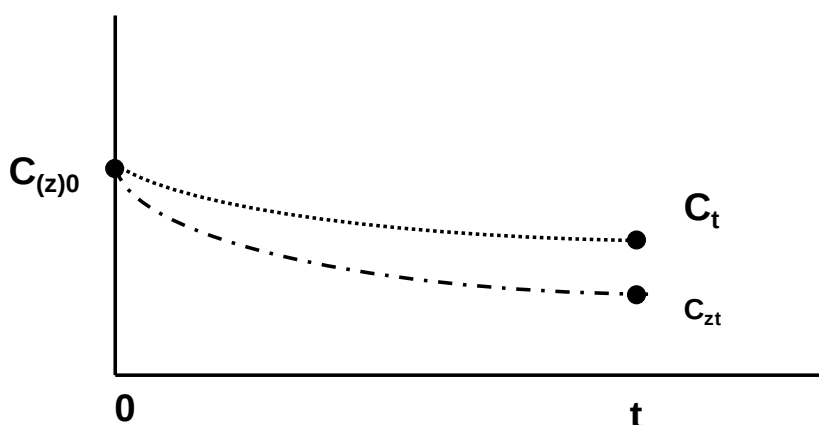


Fig. 3. Représentation de l'évolution théorique des concentrations en proies en fonction du temps d'incubation. $C_{(z)0}$ est la concentration des proies au début de l'expérience, C_t leur concentration dans les flacons de contrôle à la fin de l'expérience et C_{zt} leur concentration dans les flacons de broutage à la fin de l'expérience.

Le principe des expériences d'incubation est de quantifier une différence de concentration de la proie (le phytoplancton) entre les bouteilles « contrôle » (la fraction < 50 μm sans zooplancton 50-250 μm) et les bouteilles « broutage » (la fraction < 50 μm et le zooplancton 50-250 μm) (Fig. 3). Les concentrations du phytoplancton ont été mesurées en termes de pigments phytoplanctoniques quantifiés par HPLC. Les détails de la méthode HPLC sont donnés dans Majdi et al. (2012).

Le taux de broutage (g), a été calculé comme :

$$g = \frac{1}{t} \ln \frac{\overline{C}_t}{C_{zt}} \quad (\text{d}^{-1})$$

Avec :

- $\overline{C}_t$: Concentration moyenne du pigment dans les bouteilles contrôles à la fin de l'expérience.
- C_{zt} : concentration du pigment dans chaque bouteille broutage.
- t : durée d'incubation en jours

Le taux de filtration (F), qui exprime la pression de prédation sur chaque pigment est calculé pour chaque bouteille broutage comme :

$$Fc = \frac{V \times g}{v} (\text{ml l}^{-1} \text{d}^{-1})$$

Avec :

- V : volume d'incubation (mL)
- v : 1 litre.

Le taux de croissance moyen (k) du phytoplancton est calculé comme :

$$\bar{k} = \frac{1}{t} \ln \frac{\bar{C}_t}{\bar{C}_0} \quad (\text{d}^{-1})$$

Avec $\bar{C}_0$: concentration moyenne du pigment dans toutes les bouteilles au début de l'expérience.

Ces calculs ont été appliqués d'une part à la concentration en Chla, représentant la biomasse totale de phytoplancton et d'autre part, sur des pigments marqueurs de groupes taxonomiques de phytoplancton. Les marqueurs quantifiés sont La chl_c, la diadinoxanthine et la fucoxanthine : marqueurs des diatomées ; l'alloxanthine : marqueur de Cryptophycées, et la lutéine, la violaxanthine et la chl_b : marqueurs d'algues vertes. La zéaxanthine est souvent utilisée comme marqueur de Cyanophycées mais peut être aussi trouvée chez les Chlorophycées. Les calculs de F ont été appliqués sur les concentrations mesurées pour chaque pigment marqueur séparément et sur la somme des pigments marqueurs pour chaque groupe taxonomique de phytoplancton. Les valeurs de F plus élevées sur des pigments marqueurs d'un groupe que sur d'autres révèlent une sélectivité de broutage pour ce groupe. C'est-à-dire, ce groupe d'algues est consommé de façon disproportionnée (positive) au vue de sa biomasse (tel que détecté par les pigments marqueurs) dans le milieu.

II.2.4. Expériences de tolérance (LOG)

II.2.4.1. Rappel de la problématique

Lors de la première phase du projet BIOFOZI (premiers 18 mois), nous avons obtenu une description complète de la composition (biodiversité) du compartiment zooplanctonique dans plusieurs stations du bassin versant de l'Escaut. Parmi ces observations, nous avons noté pour la première fois la présence du copépode calanoïde *Eurytemora affinis* dans certaines stations en amont de la limite de l'estuaire de l'Escaut. Or, les travaux récents du suivi pluriannuel de l'estuaire de l'Escaut (projet OMES) ont confirmé la capacité de cette espèce de migrer et s'installer dans la partie eau douce de l'estuaire. Ces observations récentes ont été corrélées à l'amélioration de la qualité de l'eau de l'amont de l'estuaire (Chambord et al., 2016). Plusieurs travaux sur le terrain, en laboratoire et de modélisation ont montré la capacité bioindicatrice de cette espèce dans les milieux estuariens (Souissi et Devreker, 2012). Nous avons donc souhaité développer un test expérimental *ex-situ* pour évaluer la qualité globale de l'eau dans certaines stations BIOFOZI en utilisant les cultures en laboratoire du copépode *Eurytemora affinis* au LOG. En effet, la petite taille des copépodes (< 1.5 mm) ne permet pas de développer une approche expérimentale *in situ*, comme par exemple la technique du 'caging' développée sur un autre crustacé de plus grande taille, le gammare. Pour mettre au point cette évaluation globale de la qualité de l'eau, nous avons sélectionné 2 stations proches, Erquinghem et Aire-sur la Lys mais contrastées de point de vue classement DCE (voir les autres sections de ce rapport).

II.2.4.2. Mise au point du protocole expérimental

La première expérience a été réalisée au cours de la campagne BIOFOZI du mois d'avril 2015. Des quantités suffisantes d'eau prélevées aux stations d'Aire-sur la Lys et Erquinghem ont été ramenées au laboratoire LOG pour réaliser ces expériences. Nous avons initié cette étude dans le cadre du stage de recherche DSR de Guénolé Alizard ainsi que du stage M1 de Capucine Bialais. Le protocole expérimental a consisté à tester 2 salinités sur 2 souches de laboratoire du même copépode *E. affinis* selon le protocole présenté dans la Fig. 4. Le témoin a été obtenu par dilution de l'eau de mer filtrée de la station marine de Wimereux (LOG) avec de l'eau distillée pour obtenir deux salinités 5 et 15 psu. En ce qui concerne l'eau prélevée *in situ*, la même procédure de dilution a été réalisée en utilisant de l'eau prélevée *in situ* dans chacun des deux sites. Les copépodes ont été nourris tous les 2 jours avec 10 mL de l'algue *Rhodomonas* sp. en phase de croissance exponentielle comme préconisé dans Souissi et al. (2010).

Pour initier cette expérience 5 femelles ovigères (portant 1 sac d'œufs) ont été triées et incubées dans un bécher de 500 mL à température constante de 18°C. Au bout d'une semaine, période suffisante pour obtenir un deuxième batch de nauplii (2^{ème} ponte) à 18°C, les individus ont été fixés au formol pour un comptage des stades de développement et pour réaliser des mesures morphométriques.

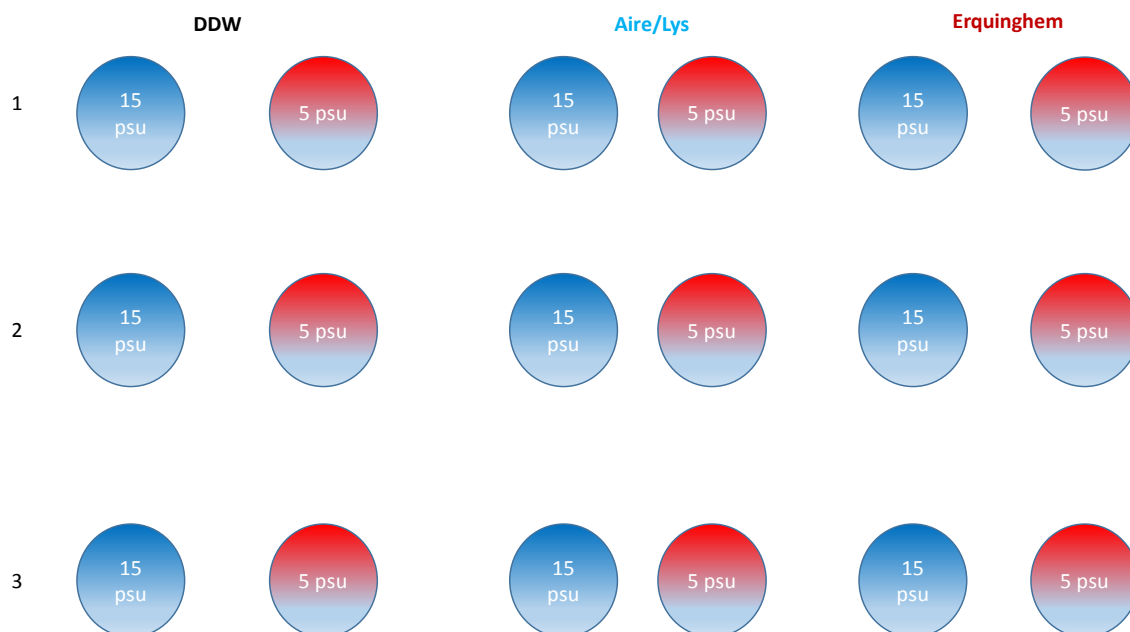


Figure 4. Protocole expérimental initial développé dans le cadre du projet BIOFOZI permettant d'exposer des femelles ovigères du copépode *Eurytemora affinis* issues de nos cultures en laboratoire en utilisant l'eau prélevée directement à Aire sur la Lys et à Erquinghem et ceci pendant 7 jours. DDW : témoin. Voir texte pour plus d'explication. Chaque ligne correspond à un réplicas (3 au total).

II.2.4.3. Effets du cocktail de polluants sur le cycle de vie complet du copépode *Eurytemora affinis*.

Ce travail expérimental a été réalisé en 2016 essentiellement dans le cadre de deux stages M2 de Mathilde Podevin et Capucine Bialais et les contrats (CDD et vacations) complémentaires.

Afin d'évaluer l'impact d'un ou plusieurs polluants sur le déroulement du cycle de vie du copépode *E. affinis*, nous avons mis au point un protocole expérimental standard inspiré des travaux antérieurs de l'équipe du LOG (Souissi et al., 2010, 2016). Ce protocole a été appliqué pour tester le déroulement de vie des *E. affinis* exposés à l'eau de deux stations BIOFOZI. Lors de l'expérience préliminaire nous avons utilisé deux souches du même copépode *E. affinis* isolées dans les estuaires de l'Escaut et la Seine. Les réponses de ces deux souches proches géographiquement et de point de vue phylogénétiques ont été similaires. Par conséquent nous avons utilisé dans la deuxième expérimentation une seule souche ; celle isolée de la Seine. L'expérience permet de suivre le développement d'une cohorte sur une génération complète. Pour cela, 9 béchers de 2 L contenant de l'eau à 5 de salinité sont préparés. Les conditions d'expérimentation sont : un témoin sans polluant, un test avec un ou plusieurs contaminants de concentration connue ou bien avec de l'eau prélevée directement dans le milieu naturel comme dans la section précédente. Pour chaque traitement, 3 réplicas ont été utilisés. La Fig. 5 montre les différentes étapes du protocole générique utilisé dans cette étude.

20 femelles ovigères sont placées dans chaque b cher, chacun muni de pondoir avec une maille de 200 m permettant de récupérer les femelles ovigères après leurs pontes ( tape 1). Les b chers sont placés dans une salle thermostatée à 18 C avec un bullage. Les copépodes sont nourris tous les 2 jours (Devreker et al., 2009) avec 10mL de la micro-algue *Rhodomonas* sp. par b cher (Souissi et al., 2010). L'alimentation permet aux copépodes d'avoir un meilleur développement. Le même protocole que les études précédentes est utilisé, et chaque b cher reçoit la même quantité de nourriture pour éliminer tout biais expérimental lié au nourrissage des copépodes.

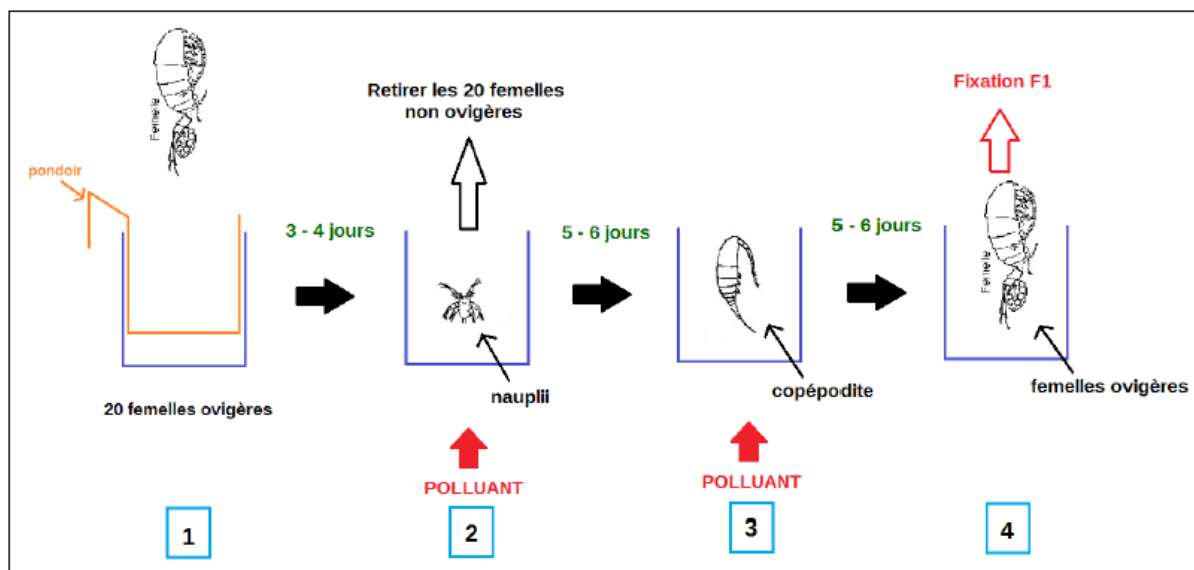


Fig. 5. Schéma du déroulement de l'expérience en cohorte, selon 4 étapes. 1 : isolation des femelles ovigères (qui portent un sac d'œufs) et incubation pendant 72h jusqu'à l'éclosion des œufs (développement embryonnaire) ; 2 : exposition des nauplii à un contaminant ou à un cocktail de contaminants (eau naturelle) ; 3 : exposition des copépodites à un contaminant ou à un cocktail de contaminants (eau naturelle) ; 4 : fixation de la population finale. L'expérience a été réalisée à une température constante de 18 C.

Après éclosion des œufs à 18 C, les pondoirs sont retirés. Le temps de développement embryonnaire est d'environ 2 jours, c'est pourquoi après 3 jours d'incubation des femelles, il ne reste plus que les nauplii dans le b cher d'origine (figure 5, étape 2). Lorsque les nauplii atteignent le stade copépodite (Figure 5, étape 3), l'eau des b chers est chang e en utilisant la même procédure qu'au départ (dans notre cas il s'agit de l'eau de mer filtrée diluée avec de l'eau distillée pour le témoin et de l'eau provenant des stations BIOFOZI pour les tests). Lorsque les individus atteignent le stade adulte, l'expérience est stoppée et les individus fixés à l'alcool (Figure 5,  tape 4). Ainsi, nous pouvons voir si les contaminants ont un impact sur la génération F1. Pour cela, chaque échantillon est compté sous un microscope, une différenciation de chaque stade est effectuée (nauplii, copépodites (C1-C4 groupes), C5 male, C5 femelle, adulte mâle, adulte femelle et femelle ovigère).

En plus des effets sur la composition finale de la génération F1 (niveau de la population); qui peut nous renseigner sur les effets sur la survie et la vitesse du développement; nous avons mesuré d'autres traits individuels chez les femelles ovigères. En effet, 20 femelles ovigères par échantillon ont été prélevées, puis photographiées via un microscope inversé (type Olympus) avec caméra pour pouvoir mesurer leurs tailles (longueur et largeur du prosome) à l'aide du logiciel ImageJ, et compter le nombre d'œufs présents selon le protocole standard (Souissi et al., 2010, 2016). Ces mesures à l'échelle individuelle peuvent nous renseigner sur les effets potentiels sur la croissance des femelles (taille) et leur fécondité (nombre d'œufs par femelle).

Comme dans le cas de l'étude réalisée en 2015, nous avons sélectionné les mêmes stations Aire-sur la Lys et Erquinghem pour les mêmes raisons évoquées plus haut. L'eau a été prélevée lors de la campagne BIOFOZI du mois de juin 2015 et pré-filtrée pour éliminer des potentiels débris et algues. Afin de respecter exactement le protocole générique, au début de l'expérience, les femelles ovigères ont été placées dans de l'eau autoclavée à 5 de salinité (salinité proche des valeurs trouvées sur le terrain dans nos stations sélectionnées). Une fois qu'elles ont pondu, les femelles sont retirées et l'eau est changée afin de mettre les nauplii en contact avec l'eau provenant d'Aire-sur-la-Lys et d'Erquinghem. Un soin tout particulier a été porté au transfert des œufs et des nauplii.

II.3. Analyses des données et présentation des résultats (TOUS)

L'analyse des données a dans un premier temps été faite sur les stations du bassin amont.

Nous présentons d'abord la liste taxonomique et les abondances des différents taxons zooplanctoniques sur les différentes stations telles qu'observées au cours des 5 campagnes.

II.3.1. Etude de la variabilité spatio-temporelle des communautés

En considérant les 5 campagnes d'échantillonnage (avril 2013, avril 2014, septembre 2014, avril 2015 et juin 2015), et l'ensemble des sites de BIOFOZI, suivis par la DCE, la variabilité spatiale et temporelle (saisonnière et interannuelle) des communautés zooplanctoniques du bassin versant a été étudiée. Nous avons cherché à identifier les facteurs généraux (sans prendre en compte les contaminants) influençant cette variabilité.

Suivant la méthode de Souissi et al. (2001) et de Anneville et al. (2002), une Analyse en Composante Principales (ACP) sur l'ensemble des échantillons (toutes campagnes confondues) a été couplée à une Classification Ascendante Hiérarchique (CAH). Les espèces indicatrices ont ensuite été identifiées pour les différents groupes d'échantillons ainsi obtenus, en utilisant l'indice IndVal (Dufrêne et Legendre, 1997). Une analyse discriminante a ensuite été utilisée pour identifier les paramètres physico-chimiques associés à la différenciation des groupes. Afin d'étudier plus spécifiquement les profils de variabilité spatiale, une classification des stations a également été réalisée indépendamment pour chaque campagne d'échantillonnage, en utilisant la même méthode de couplage ACP-CAH, basée d'une part sur les abondances zooplanctoniques et d'autre part sur les paramètres environnementaux généraux (sauf pour avril 2013, pour laquelle le jeu de données environnemental est insuffisant). Pour chacune des 4 campagnes considérées, les profils de distribution du zooplancton ont été comparés à ceux des paramètres environnementaux à l'aide de tests de Mantel.

II.3.2. Réponse des communautés aux conditions environnementales totales

Finalement, les données d'abondance et de composition du zooplancton ont été couplées à des données de physico-chimie, d'état écologique évalué par la DCE et de contamination de l'eau.

Pour cette dernière partie, l'approche s'est appuyée sur la question posée par Jenkins et Buikema (1998) : « des communautés similaires se développent-elles dans des conditions similaires ? ». Effectivement, le concept d'indicateur de qualité de l'eau implique que les communautés des organismes considérés comme indicateur soient similaires à des stations présentant une qualité d'eau similaire. Donc l'analyse a visé à évaluer si l'abondance et la composition des communautés zooplanctoniques est plus similaire dans les stations du bassin présentant des conditions environnementales similaires.

La méthode suivante a été employée :

Dans un premier temps, les stations ont été classées selon leurs similarités en termes de conditions environnementales. Plusieurs critères ont été successivement utilisés pour définir la notion de « conditions environnementales », schématisés en Fig. 6 :

- L'Etat Ecologique des stations (DCE),
- Les conditions physico-chimiques « générales » (MES, MO/MES, concentrations en Chla, oxygène et nutriments),
- Le niveau de contamination de l'eau : celui-ci a été défini plus spécifiquement à partir des principales sources de contamination de la région : Polychlorobiphényles (PCB), Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP), di-2-ethylhexyl phthalate ester (DEHP), et les trois métaux lourds Cadmium, Plomb et Zinc. Ces différents polluants ont également été pris en compte à plusieurs niveaux de précision (contamination totale, contamination aux métaux, contamination aux POP, et contamination individuelle), regroupant plusieurs substances.

En ce qui concerne l'Etat Ecologique, les groupes de stations étaient déjà prédéfinis par la classification de la DCE (approche supervisée, ou top-down). Ne disposant que de la classification de l'état écologique pour l'année 2014, seules les campagnes d'avril 2014 et de septembre 2014 ont été considérées pour cette partie.

La classification sur la base des conditions physico-chimiques générales a été réalisée par une approche similaire à celle décrite plus haut (couplage ACP + CAH) et relève donc d'une classification non-supervisée (approche *bottom-up*). Les analyses ont été faites pour cette partie sur les campagnes d'avril 2014, septembre 2014, avril 2015 et juin 2015.

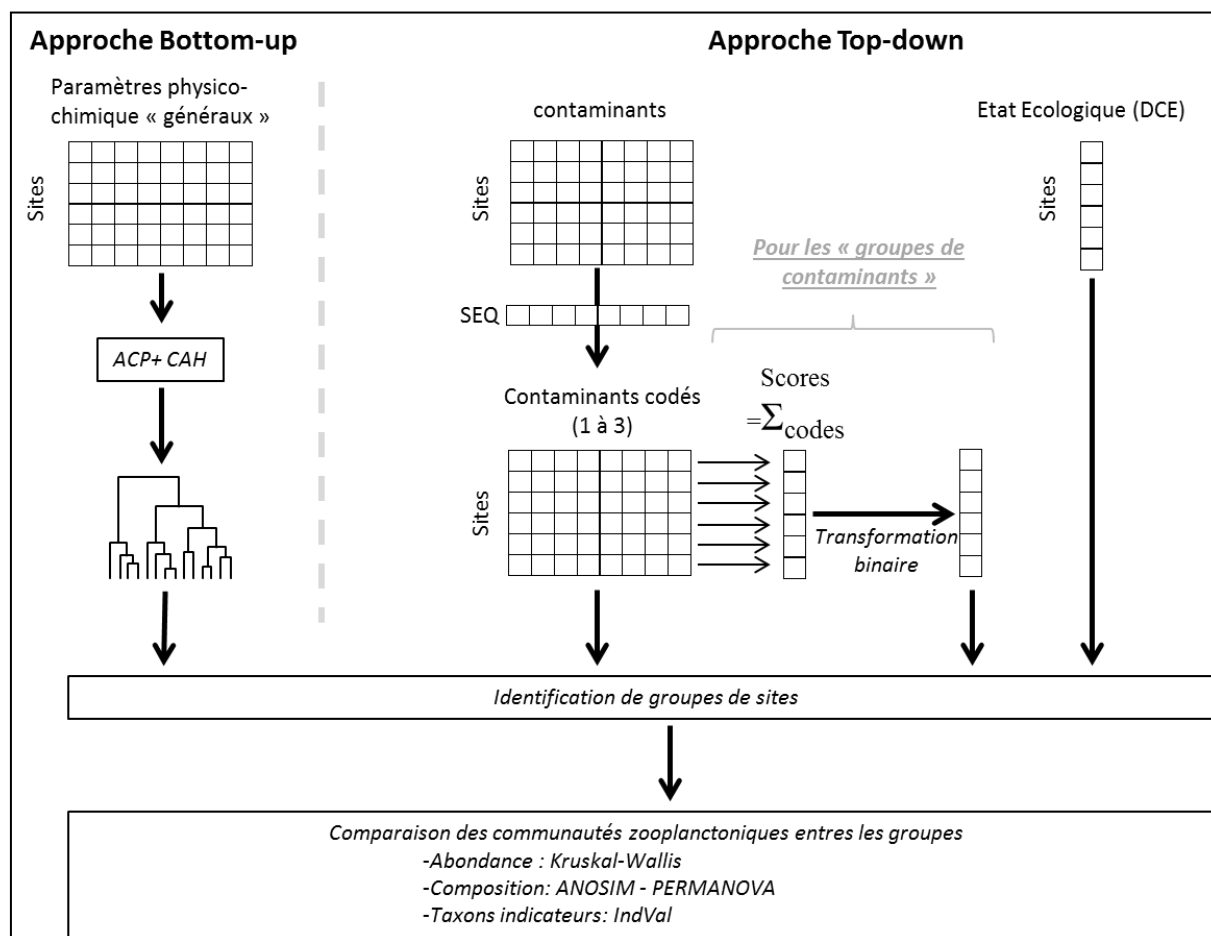


Fig. 6. Schéma des différentes étapes utilisées pour la classification. Voir texte pour les détails.

Les données de contaminants ont été également traitées par une approche *top-down* supervisée, et pour les campagnes où elles étaient disponibles : avril 2014, septembre 2014, avril 2015 et juin 2015. Étant donné le grand nombre de molécules quantifiées, afin d'éviter d'avoir plus de variables explicatives que dépendantes, les données chimiques concernant les différents polluants ont nécessité un traitement de codage et de groupement afin de pouvoir être inclus dans les analyses statistiques. Ceci a également permis de prendre en compte un certain nombre de substances avec des concentrations inférieures au seuil de détection.

Les seuils du Système d'évaluation de la Qualité de l'eau (SEQ-Eau, Oudin & Maupas, 2003) ont été utilisés pour le codage. Chaque valeur de chaque contaminant a été codée 1 si la concentration observée était en dessous du seuil le plus bas SEQ-Eau (indiquant un bon état) ou en dessous de la limite de détection, 2 si la concentration observée était entre le seuil minimal et maximal du SEQ – Eau et de 3 si la concentration observée était supérieure au seuil maximal SEQ-Eau (indiquant un mauvais état).

Chaque polluant a ainsi pu être codifié de 1 à 3 en fonction de la valeur de sa concentration dans le milieu. Afin d'évaluer l'effet d'«ensembles de contaminants» (c'est à dire l'effet de pollutions impliquant plusieurs substances tels que l'effet total des HAP.p, HAP.d, PCB.d, POP, métaux, ou de toutes ces substances réunies), les codes obtenus pour les substances composantes de chacun de ces ensembles ont été sommés, afin d'obtenir un **score**, que nous avons ramené en pourcentage de la contamination maximale possible (c'est-à-dire la valeur théorique si tous les contaminants sont codés 3). Le score obtenu pour chaque station a été transformé de façon binaire : codé 1 pour les scores en dessous de la médiane de toutes les stations, score 2 pour les stations avec des scores au-dessus (méthode basée sur Hamadou et al. 2001).

Dans un second temps, les abondances et compositions des communautés zooplanctoniques peuvent être comparées entre les différents groupes de sites obtenus par ces classifications.

L'abondance des rotifères, copépodes, cladocères et de l'ensemble du zooplancton a été comparée entre les stations des différents groupes créés (à l'aide de tests de Mann & Whitney et de Kruskal-Wallis), et la composition taxonomique (à l'aide de tests ANOSIM et PERMANOVA) des communautés zooplanctoniques a également été comparée dans les stations ainsi classifiées.

Enfin, les contributions relatives des concentrations en polluants et des facteurs environnementaux autres à expliquer la variabilité du zooplancton ont été évaluées par une partition de la variance.

II.4. Résultats

I.1.1 Campagnes d'échantillonnages

5 campagnes d'échantillonnages ont été réalisées : avril 2013, avril 2014 et septembre 2014, et avril et juin 2015. Les stations sont indiquées dans la Fig. 7 et les facteurs quantifiés pendant chaque campagne sont indiqués dans le tableau 1.

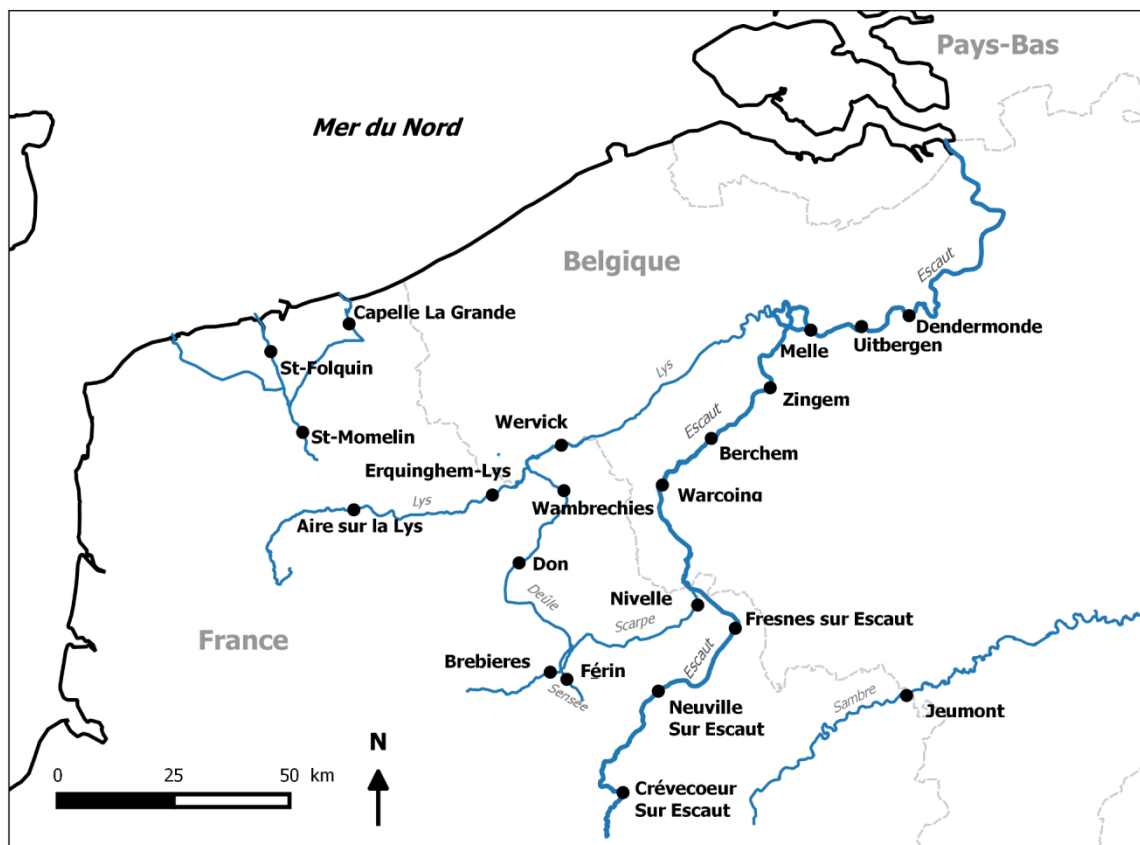


Fig. 7 Carte des stations échantillonnées dans le cadre du projet BIOFOZI (carte : M. Le Coz).

Tableau 1 (page suivante) : Récapitulatif des campagnes d'échantillonnage réalisées en avril 2013, avril 2014, septembre 2014, avril 2015 et juin 2015. Le suivi de la plupart des stations est assuré soit par l'Agence de l'Eau Artois Picardie (Suivi AEAP), soit par le « Vlaamse Milieu Maatschappij » (suivi VMM), soit par le Service Public de Wallonie (suivi SPW). Les stations WAM, CSE, MSE et BER ont été ajoutées à partir de la deuxième campagne d'échantillonnage.

STATION abbreviation / coordonnées (Lambert 93)		date de campagne	Abondance /diversité du zooplancton	Facteurs environnementaux	activité de broutage du zooplancton	concentration polluants
ZIN	L'ESCAUT CANALISÉ À ZINGEM (B) latitude 725033,2 longitude 7067324 Suivi SPW	avril 2013	X	X		
		avril 2014	X	X		X
		septembre 2014	X	X		X
		avril 2015	X	X		X
		juin 2015	X	X		X
BER	L'ESCAUT CANALISÉ À BERCHEM (B) latitude 735428,4 longitude 7077585,1	avril 2013				
		avril 2014	X	X		X
		septembre 2014	X	X		X
		avril 2015	X	X		X
		juin 2015	X	X		X
WAR	L'ESCAUT CANALISÉ À WARCOING (B) latitude 747979,47 longitude 7088768,19 Suivi VMM	avril 2013	X	X		
		avril 2014	X	X		X
		septembre 2014	X	X		X
		avril 2015	X	X		X
		juin 2015	X	X		X
FSE	L'ESCAUT CANALISÉ À FRESNES SUR ESCAUT (59) latitude 741352,88 longitude 7036644,61 Suivi AEAP	avril 2013	X	X		
		avril 2014	X	X		X
		septembre 2014	X	X		X
		avril 2015	X	X		X
		juin 2015	X	X		X
NSE	L'ESCAUT CANALISÉ À NEUVILLE SUR ESCAUT (59) latitude 724964,26 longitude 7022755,87 Suivi AEAP	avril 2013				
		avril 2014	X	X		X
		septembre 2014	X	X		X
		avril 2015	X	X		X
		juin 2015	X	X		X
CSE	L'ESCAUT RIVIÈRE À CRÉVECOEUR SUR ESCAUT (59) latitude 717731,08 longitude 7000717,64 Suivi AEAP	avril 2013				
		avril 2014	X	X		X
		septembre 2014	X	X		X
		avril 2015	X	X		X
		juin 2015	X	X		X
WER	LA LYS CANALISÉE À WERVICQ (59) latitude 703042,25 longitude 7075538,65 Suivi AEAP	avril 2013	X	X		
		avril 2014	X	X		X
		septembre 2014	X	X		X
		avril 2015	X	X		X
		juin 2015	X	X		X
EL	LA LYS CANALISÉE À ERQUINGHEM/LYS (59) latitude 688329,65 longitude 7064492,23 Suivi AEAP	avril 2013	X	X		
		avril 2014	X	X		X
		septembre 2014	X	X		X
		avril 2015	X	X	X	X
		juin 2015	X	X		X
ASL	LE CANAL D'AIRE À LA BASSÉE À AIRE SUR LA LYS (62) latitude 658430,74 longitude 7060738,81 Suivi AEAP	avril 2013	X	X		
		avril 2014	X	X		X
		septembre 2014	X	X		X
		avril 2015	X	X	X	X
		juin 2015	X	X		X
WAM	LA DEULE CANAL À WAMBRECHIES (59) latitude 703766,04 longitude 7065722,78 Suivi AEAP	avril 2013				
		avril 2014	X	X		X
		septembre 2014	X	X		X
		avril 2015	X	X		X
		juin 2015	X	X		X
DON	LA DEULE CANAL À DON (59) latitude 694366,33 longitude 7049924,01 Suivi AEAP	avril 2013	X	X		
		avril 2014	X	X	X	X
		septembre 2014	X	X	X	X
		avril 2015	X	X	X	X
		juin 2015	X	X	X	X
NIV	LA SCARPE CANALISÉE À NIVELLE (59) latitude 733138,69 longitude 7041513,97 Suivi AEAP	avril 2013	X	X		
		avril 2014	X	X	X	X
		septembre 2014	X	X	X	X
		avril 2015	X	X	X	X
		juin 2015	X	X	X	X
BRE	LA SCARPE CANALISÉE À BREBIÈRES (62) latitude 701544,79 longitude 7026434,18 Suivi AEAP	avril 2013	X	X		
		avril 2014	X	X		X
		septembre 2014	X	X	X	X
		avril 2015	X	X		X
		juin 2015	X	X		X
FER	LA SENSÉE CANALISÉE À FÉRIN (59) latitude 705152,65 longitude 7024960,71 Suivi AEAP	avril 2013	X	X		
		avril 2014	X	X	X	X
		septembre 2014	X	X		X
		avril 2015	X	X	X	X
		juin 2015	X	X	X	X
CLG	LE CANAL DE BERGUES À CAPPELLE LA GRANDE (59) latitude 656644,19 longitude 7100919,99 Suivi AEAP	avril 2013	X	X		
		avril 2014				
		septembre 2014				
		avril 2015				
		juin 2015				
SM	LE CANAL DE L'AA À SAINT MOMELIN (59) latitude 647054,87 longitude 7077281,24 Suivi AEAP	avril 2013	X	X		
		avril 2014				
		septembre 2014				
		avril 2015				
		juin 2015				
SF	LE CANAL DE L'AA À SAINT FOLQUIN (62) latitude 639826,94 longitude 7094601,13 Suivi AEAP	avril 2013	X	X		
		avril 2014				
		septembre 2014				
		avril 2015				
		juin 2015				
JEU	LA SAMBRE CANALISÉE À JEUMONT (59) latitude 778632,96 longitude 7022775,67 Suivi AEAP	avril 2013	X	X		
		avril 2014	X	X		X
		septembre 2014	X	X		X
		avril 2015	X	X		X
		juin 2015	X	X		X

II.4.1. Composition, diversité et abondance des communautés zooplanctoniques

Les organismes étudiés dans les échantillons appartiennent aux phyllums des rotifères, des copépodes et des cladocères (Fig 8).

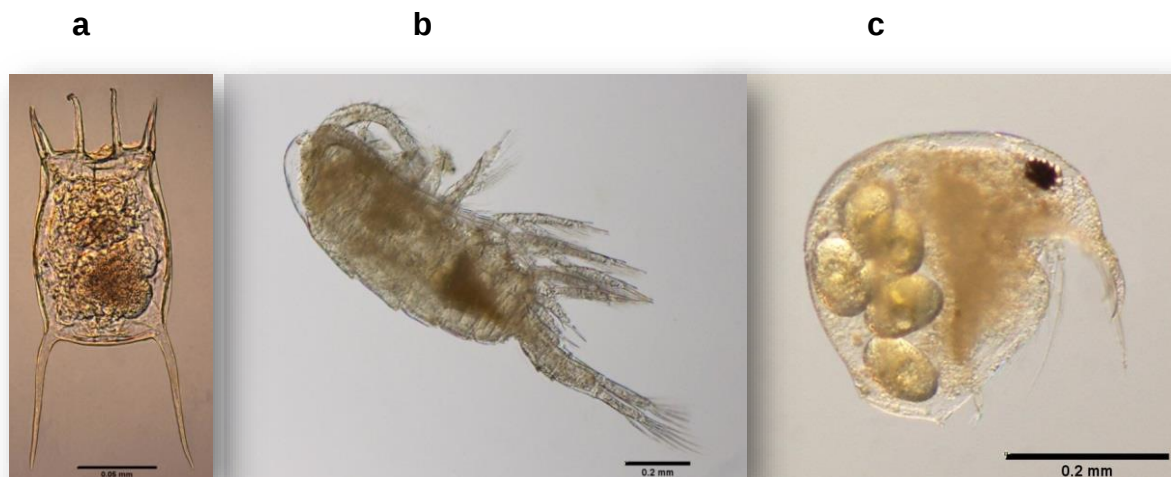


Fig. 8. Photos de rotifère (a), copépode (b) et cladocère (c)

22 taxa de rotifères et 5 taxa de cladocères ont été observés sur les stations BIOFOZI (tableau 2). Dans le groupe des rotifères, les taxons dominants sont les Monogonontes *Keratella cochlearis*, *Brachionus calyciflorus*, *Polyarthra* sp., *Synchaeta* sp., *Keratella quadrata* et *Brachionus angularis*.

Les échantillons d'avril 2013, 2014 et 2015 étaient plutôt surtout composés de rotifères. Les copépodes et en particulier les calanoïdes étaient plutôt caractéristiques des campagnes de juin 2014 et septembre 2015, bien que les rotifères étaient toujours dominants en abondance numérique dans ces échantillons (Fig. 9). Le copépode calanoïde *Eurytemora affinis*, non exotique mais potentiellement invasif, a été observé en abondances limitées (maximum 270 ind m⁻³) sur plusieurs stations, les plus en amont étant Aire-sur-la-Lys et Fresnes-sur-l'Escaut.

Tableau 2. Liste des taxons recensés dans l'ensemble des stations du bassin versant échantillonnées lors des campagnes BIOFOZI (indiqués par un astérisque), et le long de l'Escaut total.

Rotifera	Copepoda
Bdelloidea	<i>Eurytemora affinis</i> (Poppe, 1880)*
Monogononta	<i>Pseudocalanus elongatus</i> (Boek, 1864)
<i>Asplanchna</i> sp.*	<i>Temora longicornis</i> (Müller, 1792)
<i>Brachionus angularis</i> (Gosse, 1851)*	<i>Acartia</i> sp.
<i>Brachionus calyciflorus</i> (Pallas, 1766)*	<i>Centropages hamatus</i> (Lilljeborg, 1853)
<i>Brachionus diversicornis</i> (Daday, 1883)*	other Calanoida
<i>Brachionus leydigii</i> (Cohn, 1862)*	adult Harpacticoida*
<i>Brachionus quadridentatus</i> (Hermann, 1783)*	adult Cyclopoida*
<i>Brachionus rubens</i> (Ehrenberg, 1838)*	Harpacticoida copepodite*
<i>Brachionus urceolaris</i> (Müller, 1773)*	Cyclopoida copepodite*
<i>Cephalodella</i> sp.*	Calanoida copepodite*
<i>Euchlanis</i> sp.*	Nauplii*
<i>Filinia longiseta</i> (Ehrenberg, 1832)*	Cladocera
<i>Kellicotia</i> sp.*	<i>Alona</i> sp.*
<i>Keratella cochlearis</i> (Gosse, 1851)*	<i>Bosmina</i> sp.*
<i>Keratella quadrata</i> (Müller, 1786)*	<i>Ceriodaphnia</i> sp.
<i>Lecane</i> sp.*	<i>Chydorus</i> sp.*
<i>Lepadella</i> sp.*	<i>Daphnia</i> sp.*
<i>Monomatta</i> sp.*	<i>Illyocryptus</i> sp.*
<i>Notholca</i> sp.*	<i>Macrotrix</i> sp.
<i>Polyarthra</i> sp.*	<i>Pleuxorus</i> sp.
<i>Synchaeta</i> sp.*	other cladocerans
<i>Trichocerca</i> sp.*	
<i>Trichotria</i> sp.*	Other
	Echinodermata
	Oikopleura
	Tintinnida
	Polychaeta
	Cirripedia nauplii
	Gastropoda larvae
	Bivalvia

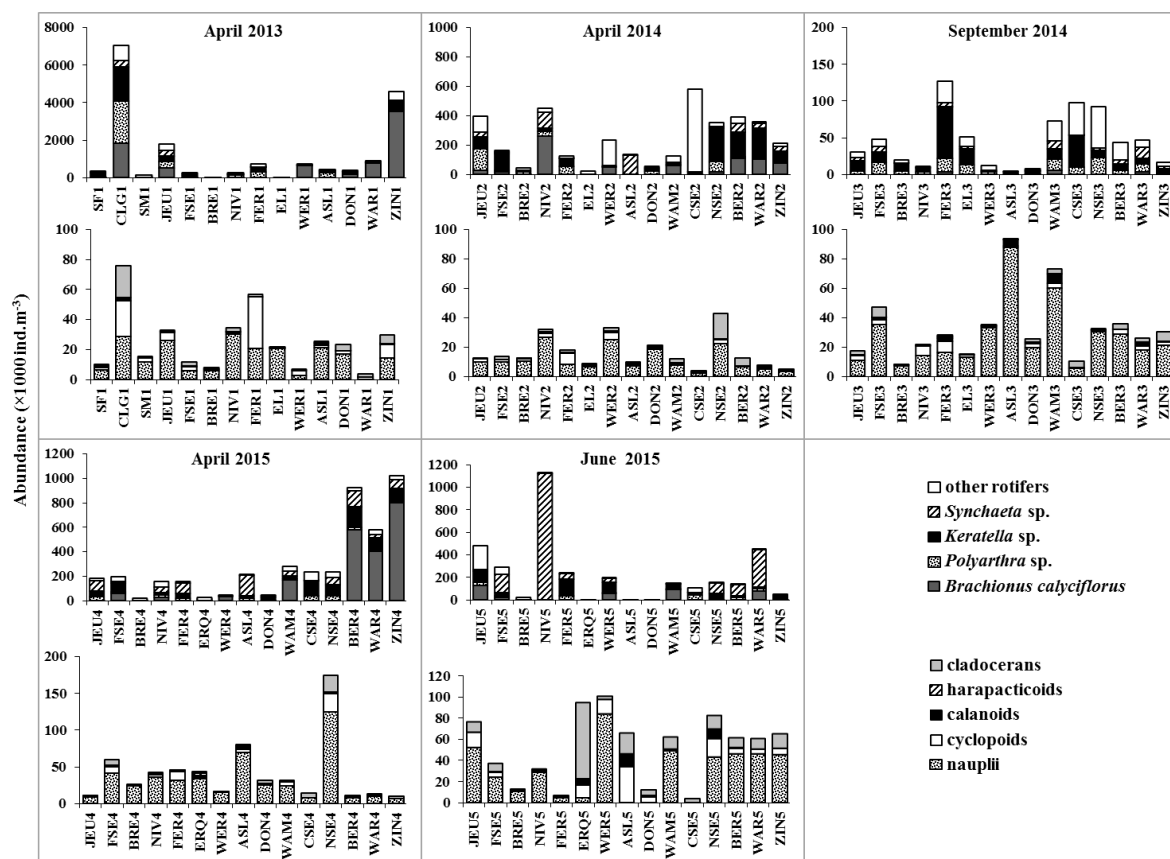


Fig. 9 Abondance des rotifères (figures supérieures) et de crustacés (figures inférieures) à toutes les stations BIOFOZI pendant chaque campagne d'échantillonnage.

II.4.2. Distribution spatio-temporelle des communautés zooplanctoniques

Les résultats de la classification hiérarchique utilisant l'ensemble des données des 5 campagnes, basées uniquement sur la composition et l'abondance des communautés zooplanctoniques, ont montré une forte variabilité saisonnière, opposant les échantillons d'Avril 2013, 2014 et 2015 et ceux de septembre 2014 et juin 2015 (Fig 10). Les communautés zooplanctoniques observées en avril 2013, 2014 et 2015 sont rassemblées dans le même cluster, montrant une constance interannuelle de la situation printanière pour le zooplancton.

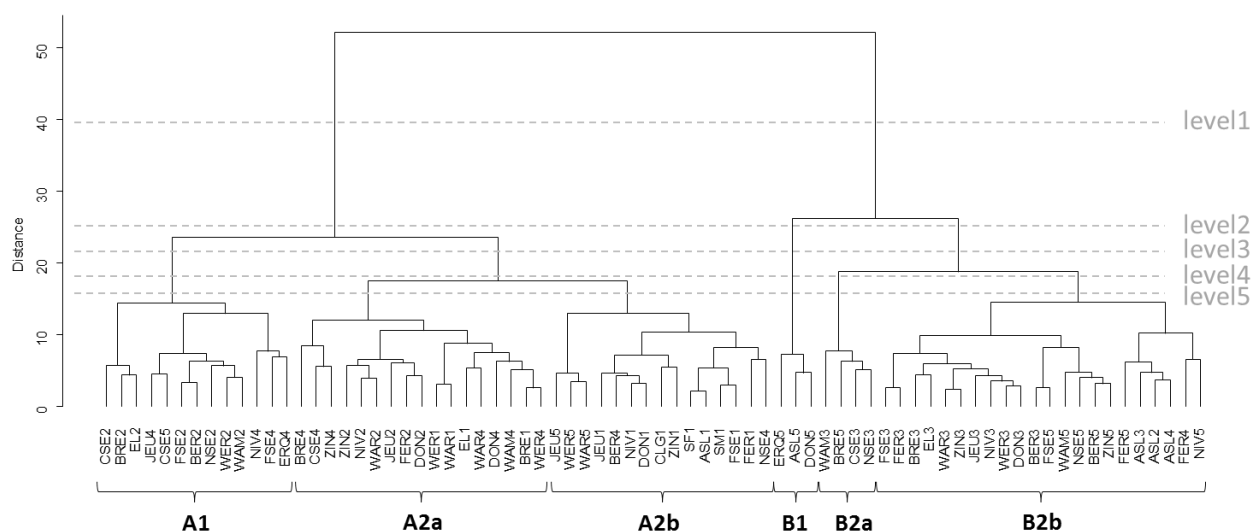


Fig. 9. Dendrogramme résultant de la classification hiérarchique basée sur la composition des communautés zooplanctoniques, considérant tous les échantillons des 5 campagnes. Cluster A : échantillons avril 2013, 2014 et 2015. Cluster B : échantillons juin 2014 et septembre 2015. Le chiffre suivant les codes des stations indique la campagne d'échantillonnage (1 pour avril 2013, 2 pour avril 2014, 3 pour septembre 2014, 4 pour avril 2015 et 5 pour juin 2015).

La principale source de variabilité des communautés zooplanctoniques au sein de la zone d'étude a été identifiée comme étant la saisonnalité, puisque les communautés des échantillons des mois d'avril 2013, 2014 et 2015 se distinguaient nettement de celles des échantillons de septembre 2014 et de juin 2015. Les facteurs influençant cette différenciation étaient les concentrations en O_2 et Chla (indicateur de biomasse phytoplanctonique), associées aux échantillons du printemps, et en opposition à la température, caractérisant les échantillons prélevés en été.

Les taxons identifiés comme plutôt caractéristiques du printemps étaient les rotifères, et en particulier les taxons majoritairement abondants représentés par les brachionidés (*Brachionus* sp., *Keratella* sp.), tandis qu'en association avec les mois d'été et les températures les plus élevées, des rotifères plus rares (*Euchlanis* sp. ou *Trichocerca* sp.) et des copépodes caractérisaient plutôt les assemblages.

Hormis l'influence des facteurs associés à la saisonnalité, les échantillons présentaient une hétérogénéité en termes de composition des communautés, ne permettant de détecter aucun profil de variabilité interannuelle ou spatiale.

Le zooplancton des échantillons issus des campagnes de printemps présentait autant de similarités / dissimilarités au sein de chaque campagne d'avril (2013, 2014, 2015) qu'entre elles. Ces résultats suggèrent une ré-occurrence des profils de distributions décrits ci-dessus lors des 3 printemps consécutifs.

L'étude de la variabilité spatiale du zooplancton montre également une importante hétérogénéité des communautés dans le bassin versant au cours d'une même période (Fig. 10). Les sites les plus proches n'étaient pas particulièrement plus similaires en termes de composition zooplanctonique, mais parfois présentaient plus de similarité avec des sites plus éloignés et non connectés d'un point de vue hydrologique. Le même constat a été fait en s'appuyant sur les facteurs environnementaux. Le fait que les stations hydrologiquement connectées ne présentent pas systématiquement des communautés zooplanctoniques plus similaires suggère un rôle limité de l'hydrologie et une contribution plus importante des conditions locales.

II.4.3. Lien entre les communautés zooplanctoniques et les facteurs environnementaux généraux

La corrélation entre les profils de variabilité spatiale de la composition du zooplancton et de ceux des facteurs environnementaux s'est révélée significative pour les périodes d'échantillonnage d'avril 2014, septembre 2014 et avril 2015 (tests de Mantel). Cependant, il n'a pas été possible d'identifier, parmi ceux pris en compte dans cette étude, de facteurs influençant clairement cette variabilité. Ceci suggère la contribution d'autres facteurs expliquant une partie de la variabilité du zooplancton.

De même, aucune relation entre les profils de distribution du zooplancton et les statuts écologiques (DCE) des stations n'a pu être mise en évidence.

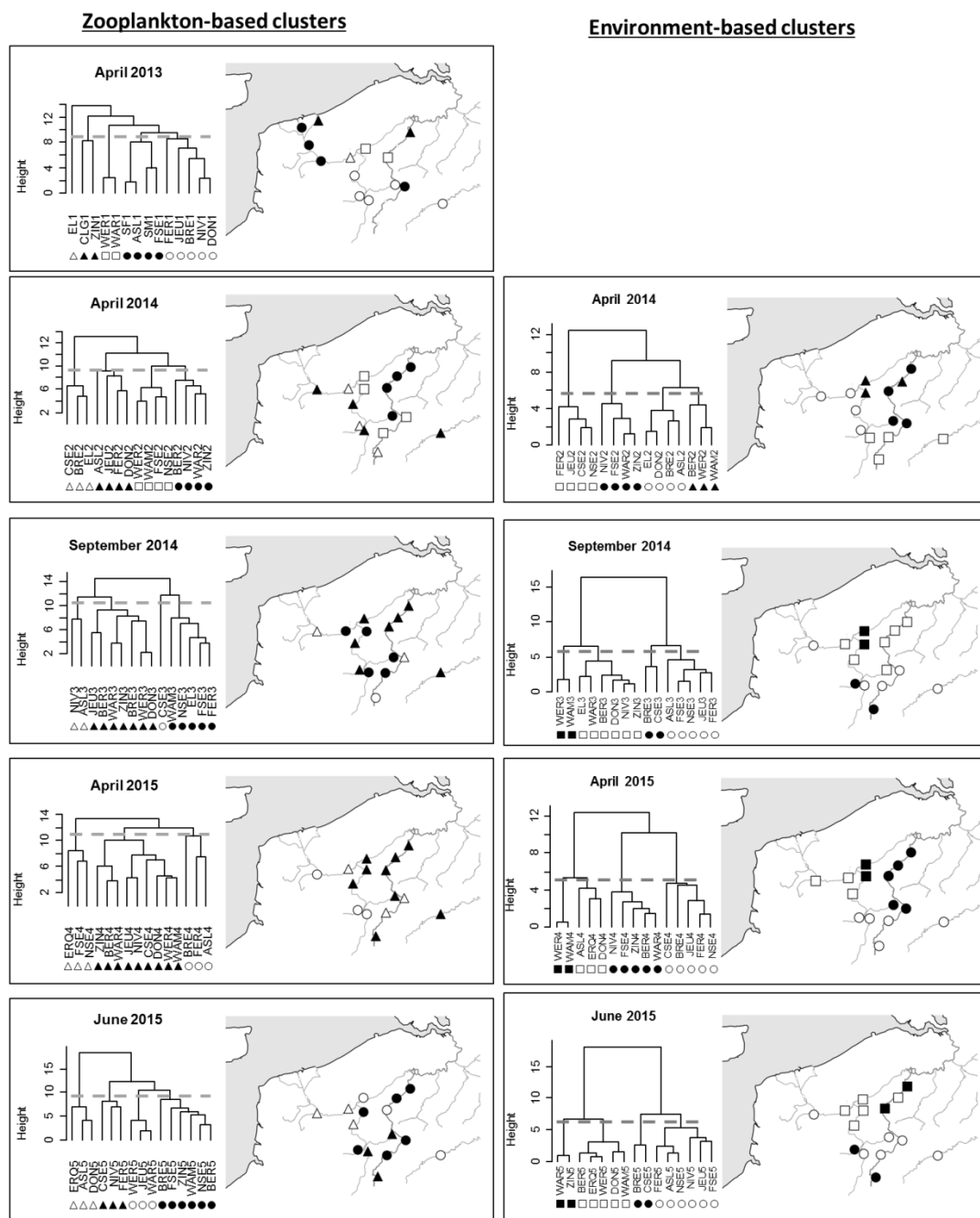


Fig. 10 Dendrogramme résultant de la classification hiérarchique d'échantillons de chaque campagne, basée sur la composition des communautés zooplanctoniques (gauche) et sur les facteurs environnementaux généraux sans polluants (droite). Les symboles des clusters sont positionnés sur les cartes.

II.4.4. Lien entre les communautés zooplanctoniques et les facteurs environnementaux généraux et la pollution

II.4.4.1. Lien entre les communautés zooplanctoniques et la classification DCE des sites

Bien que les stations étudiées se répartissent en 4 classes d'Etat Ecologique (Fig. 11), aucune différence n'a pu être établie entre les abondances (Kruskal-Wallis, $P > 0.05$) ou la composition des communautés zooplanctoniques (ANOSIM : $P > 0.05$, PERMANOVA: $P > 0.05$) de ces différentes classes de stations (Fig. 11, Fig. 12).

Fig. 11. Etat écologique des stations selon la classification DCE (2014) : bon : vert ; acceptable : jaune ; médiocre : orange ; mauvais : rouge.

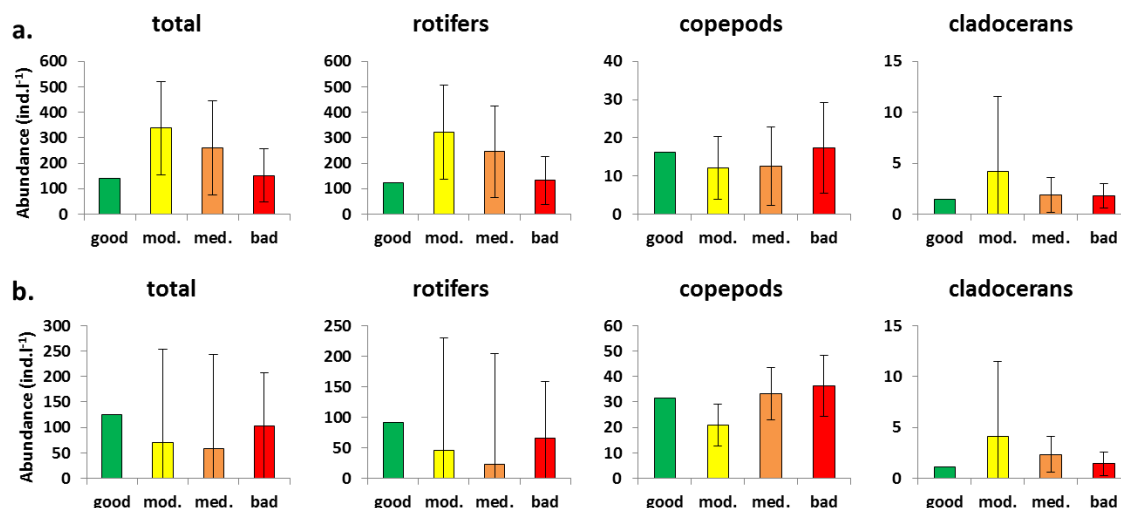
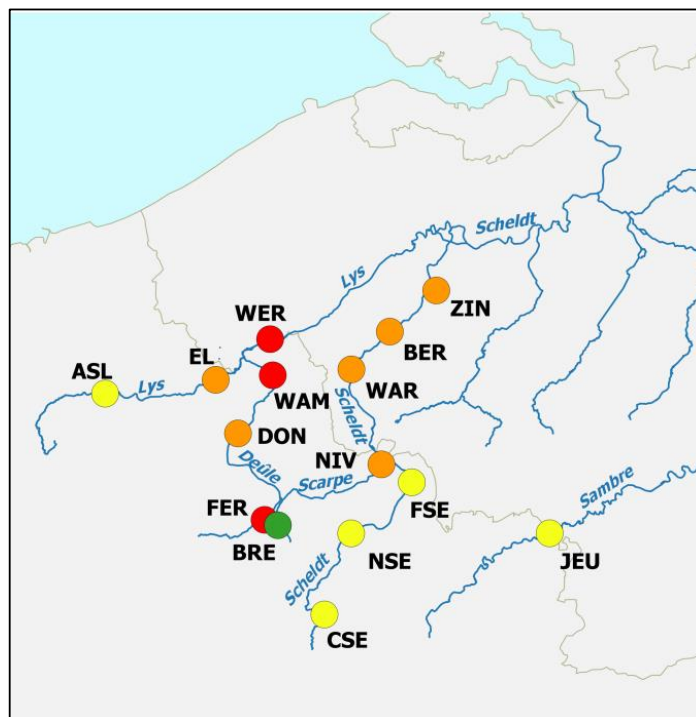


Figure 12. Abondance moyenne du zooplancton total et par groupe taxonomique pour les stations groupées selon l'état écologique DCE, en avril 2014 et septembre 2015. Les codes-couleurs correspondent à ceux de la Fig. 11. Les lignes verticales représentent les écart-types.

II.4.4.2. Lien entre la communauté zooplanctonique et les conditions physico-chimiques générales du milieu.

La classification des stations basée sur les conditions physico-chimiques a révélé des profils de distribution 'régionalisés' au sein de la zone d'étude, avec des stations classées par zone géographique (Nord / Sud) (Fig. 13). En avril 2014 et avril 2015, une ségrégation est également observée entre les stations à l'Ouest et celles à l'Est. Les ACP ont montré que ces patterns récurrents aux mois d'avril étaient associés aux mêmes facteurs : Les stations au Nord sont associées à des concentrations élevées de Chla et d'O₂, celles à l'Est à des contributions élevées de matière organique à la matière en suspension (OM/SPM) et celles à l'Ouest à des concentrations élevées en NO₃-N, NO₂-N et PO₄-P (Fig. 13 b).

En avril et septembre 2014, l'abondance du zooplancton total avait tendance à se différencier entre les catégories de stations (A, B, C) (Fig. 14), mais cette tendance n'était pas significative (test Kruskal-Wallis : P=0.094, P=0.088 and P=0.077 pour les 3 campagnes respectivement). En avril 2015, les rotifères étaient plus abondants dans les stations au Nord, associées à des concentrations en Chla et O₂ élevées (test Mann & Whitney, P=0.054).

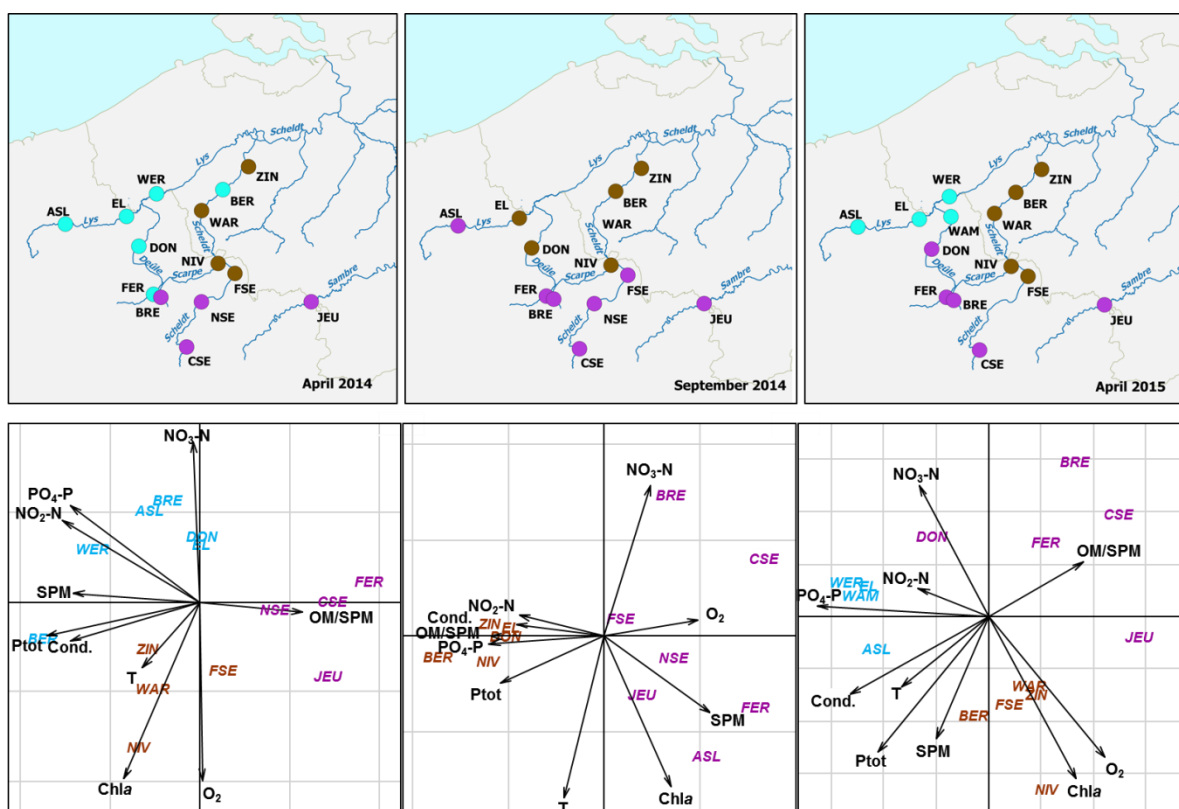


Fig. 13. Classification des stations selon les facteurs physico-chimiques généraux pour les campagnes d'avril et septembre 2014 et avril 2015. Les différents clusters sont représentés par des couleurs différentes.

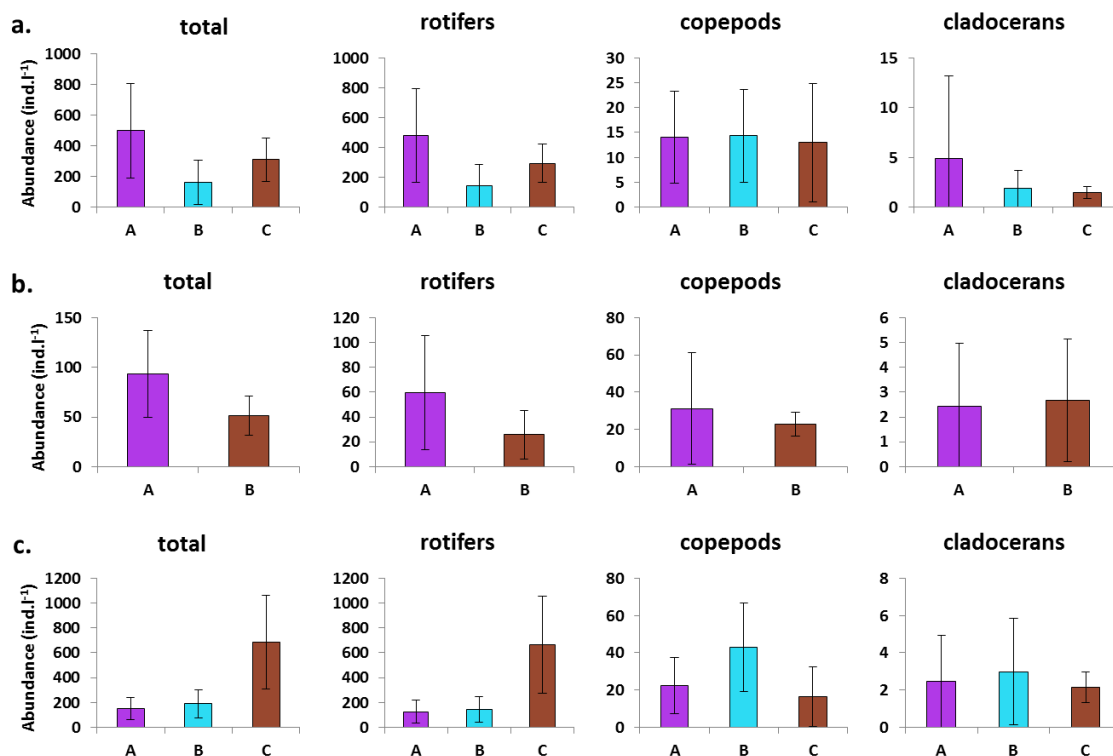
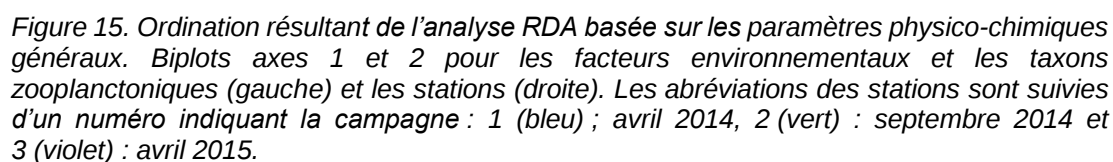


Figure 14. Abondance moyenne du zooplancton total et des groupes taxonomiques dans les différentes catégories (A, B, C, codes couleurs comme dans la Fig. 13) de conditions environnementales basées sur les facteurs à physico-chimique généraux. Campagne avril 2014 (a), septembre 2014 (b) et avril 2015 (c). Les traits verticaux représentent les écart-types.

L'analyse RDA menée sur les 3 campagnes combinées (Fig.15) confirme l'association entre les plus fortes concentrations en oxygène et en chlorophylle a des mois d'avril et les rotifères, et l'association entre les températures plus élevées et le mois de septembre avec les copépodes. En revanche les échantillons des mois d'avril 2014 et 2015 ne se différencient pas particulièrement sur l'ordination.



The figure consists of three maps of the Scheldt river basin, showing the spatial distribution of scores (%) for the four indicators (ASL, WAM, DON, FER) in April 2014, September 2014, and April 2015. The maps show a general trend of increasing scores over time, with the highest scores (54.0-57.5%) appearing in the downstream areas (ZIN, BER, WAR) in April 2015.

Legend for April 2014:

- 0 - 46
- 46 - 48
- 48 - 49
- 49 - 53

Legend for September 2014:

- 0.0 - 42.0
- 42.0 - 43.0
- 43.0 - 47.2
- 47.2 - 52.0

Legend for April 2015:

- 48.0 - 52.5
- 52.5 - 54.0
- 54.0 - 57.5
- 57.5 - 67.0

Contrairement à la classification des sites basée sur les conditions physico-chimiques, la classification basée sur la contamination totale n'a pas donné de profil régionalisé, mais plutôt des conditions hétérogènes au sein du bassin (Fig. 16). En comparant les communautés zooplanctoniques des différentes classes de condition créées à partir des contaminants, les réponses suivantes ont pu être identifiées :

- Un effet significatif de la contamination aux POP sur la composition taxonomique des rotifères et des copépodes en septembre 2014,
- Un effet significatif de la concentration en DEHP sur l'abondance des cladocères en septembre 2014,
- Un effet significatif du zinc sur l'abondance des cladocères en avril 2014,
- Une influence croisée significative des POP et ETM sur la composition taxonomique des cladocères en avril 2015 (bien que l'influence des POP et des ETM n'aient pas présenté d'influence séparément).

Outre ces réponses significatives, quelques tendances non-significatives ont pu être dégagées : un effet des concentrations en HAP particulières sur les compositions taxonomiques des copépodes en avril 2014 et sur les rotifères en avril 2015, du DEHP sur la composition des copépodes en septembre 2014, de l'ensemble des métaux sur la composition des cladocères en avril 2014 et sur l'abondance des rotifères et des cladocères en septembre 2014, et un effet des concentrations en plomb sur la composition des rotifères et cladocères en avril 2014, et sur l'abondance de ces deux groupes en septembre 2014.

Cette fois, l'ordination issue de la RDA basée sur les contaminants séparait clairement les 3 différentes périodes d'échantillonnage, suggérant que la contamination contribuait potentiellement à la dissimilarité entre les communautés d'avril 2014 et avril 2015 (Fig. 17).

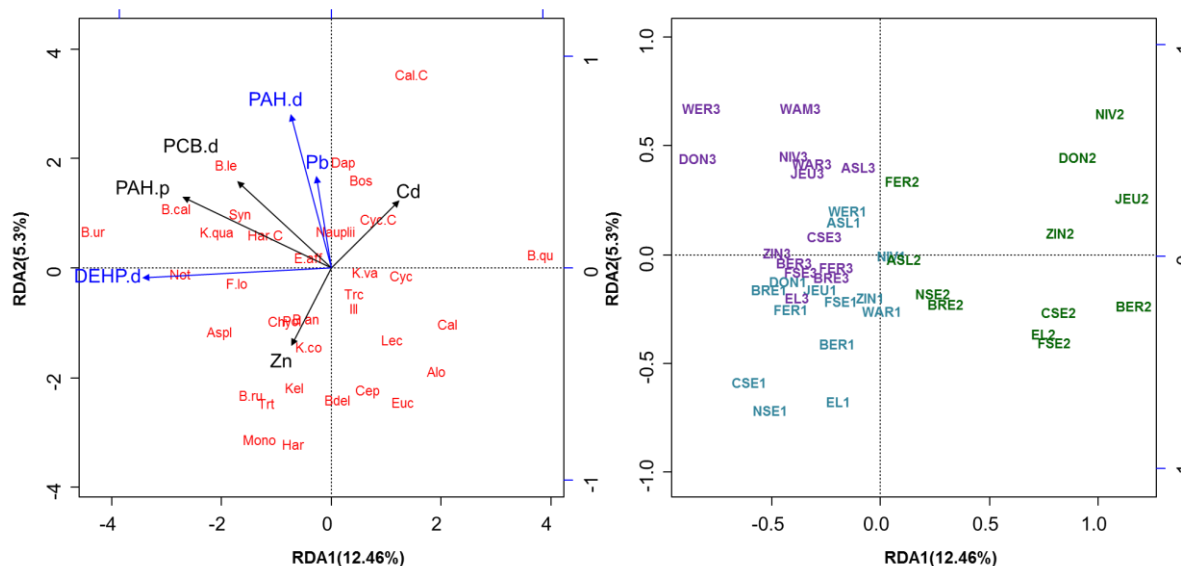


Figure 17. Ordination résultant de l'analyse RDA basée sur les contaminants. Biplots axes 1 et 2 pour les facteurs environnementaux (contaminants) et les taxons zooplanctoniques (gauche) et les stations (droite). Les abréviations des stations sont suivies d'un numéro indiquant la campagne : 1 (bleu) ; avril 2014, 2 (vert) : septembre 2014 et 3 (violet) : avril 2015.

Part de la variabilité expliquée par les paramètres physico-chimiques généraux et par la contamination de l'eau :

La partition de variance indique que les contaminants contribuaient à expliquer environ 7% de la variance du zooplancton (probablement en partie assimilée aux différences interannuelles), tandis que les facteurs physico-chimiques autres en expliquaient 14%, et que 5 % étaient attribués à la contribution des deux.

La part non-expliquée de variabilité du zooplancton restait donc très importante (74 %). Globalement, les réponses du zooplancton aux facteurs physico-chimiques et aux polluants étaient assez faibles, en raison probablement de l'hétérogénéité de nos données, qui pourrait être réduite par un effort d'échantillonnage plus important.

Par ailleurs, le fait que quelques espèces de rotifères (*Brachionus calyciflorus*, *Keratella cochlearis*, *Synchaeta* sp., *Polyarthra* sp., *Keratella quadrata*, *Brachionus angularis*) dominant l'assemblage pourrait être associé à une plus forte tolérance de ces organismes à la pollution, favorisés par leur petite taille, leur stratégie de reproduction et leur compétitivité (Odum, 1985, Havens & Hanazato, 1993; Hanazato, 2001).

Enfin, la distribution du zooplancton est régulée par de multiples facteurs biotiques et abiotiques et par leurs interactions. La liste des facteurs utilisés dans cette étude est loin d'être exhaustive, et l'influence de la prédation et de l'hydrologie, et de certains contaminants, comme par exemple les résidus médicamenteux, ont probablement aussi un impact sur la structure des communautés.

Néanmoins, cette étude a permis de démontrer que, bien que le zooplancton ne réponde pas aux variations de la qualité de l'eau telle qu'elle est évaluée par la Directive Cadre Eau (ie. Les Etats Ecologiques des stations), la pollution des cours d'eau semble influencer l'abondance et la composition du zooplancton. Les résultats obtenus, même s'ils nécessitent d'être renforcés, traduisent la complexité liée à la fois aux effets directs et indirects des polluants sur les communautés dans leur globalité, et à l'effet des pollutions multiples telles qu'elles existent dans le milieu naturel. La surveillance des communautés zooplanctonique fournit donc une information d'un point de vue fonctionnel.

II.4.5. Etude du zooplancton sur l'ensemble de l'Escaut

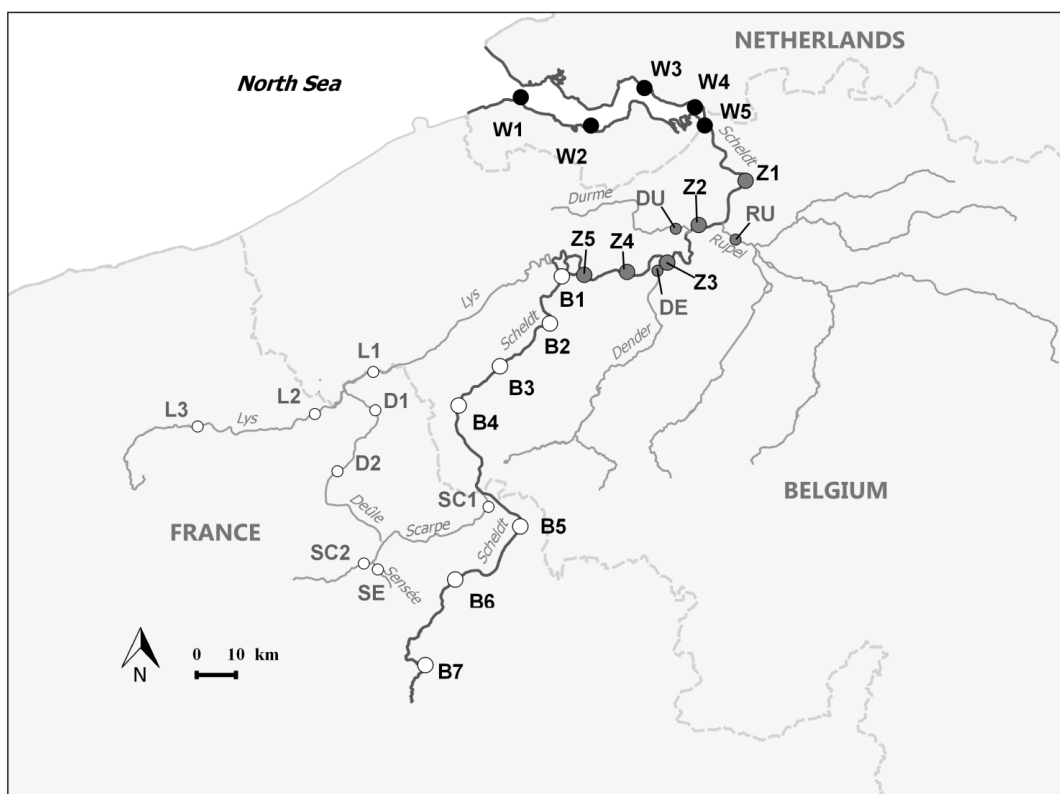


Fig. 18. Carte montrant les stations BIOFOZI, OMES et MONEOS échantillonnées de façon synchrone en avril 2013 et juin 2015. Cercles noirs : Westerschelde, cercles gris : Zeeschelde, cercles blancs : Bovenschelde. Voir tableau 1 pour les codes des stations.

Grâce à la collaboration avec les projets OMES (ECOBIE, Université d'Anvers, Belgique) et MONEOS (NIOZ, Rijkswaterstaat, Pays bas), deux campagnes BIOFOZI (en avril 2013 et juin 2015) ont pu être réalisées pendant une période rapprochée (< 2 semaines) de celles d'OMES et MONEOS, sur l'Escaut. Ceci a permis une étude de la distribution longitudinale des communautés zooplanctoniques de l'Escaut en relation avec les facteurs physico-chimiques et les conditions trophiques, en prenant en compte plus de 300 km de cours d'eau de Crévecœur-sur-Escaut (France) à Vlissingen (Pays-Bas), ainsi que plusieurs tributaires (dont ceux inclus dans BIOFOZI). L'Escaut comportant une zone estuarienne d'eau douce, l'étude a pris en compte à la fois l'influence de la marée et celle du gradient de salinité, et a permis de tester entre autres deux concepts majeurs : le Concept de Continuum Fluvial (Vannote, 1980) et le diagramme de Remane (Remane, 1934).

Tableau 3. Code, localisation, cours d'eau et distance de l'embouchure des sites échantillonnés.

	code station	localisation	Cours d'eau	distance de l'embouchure (km)
<i>Westerscheldt</i>	W1	Breskens (ND)	Scheldt	0
	W2	Terneuzen (ND)	Scheldt	23
	W3	Hansweert (ND)	Scheldt	43
	W4	Schaar Van Ouden Doel (ND)	Scheldt	56
	W5	Zandvliet (ND)	Scheldt	57
<i>Zeescheldt</i>	Z1	Antwerp (BE)	Scheldt	78
	Z2	Temse (BE)	Scheldt	99
	Z3	Dendermonde (BE)	Scheldt	121
	Z4	Uitbergen (BE)	Scheldt	138
	Z5	Melle (BE)	Scheldt	151
<i>Bovenscheldt</i>	B1	Bovenshelde (BE)	Scheldt	167
	B2	Zingem (BE)	Scheldt	174
	B3	Berchem (BE)	Scheldt	193
	B4	Warcoing (BE)	Scheldt	208
	B5	Fresnes-sur-Escaut (FR)	Scheldt	249
	B6	Neuville-sur-Escaut (FR)	Scheldt	274
	B7	Crévecœur-sur-l'Escaut (FR)	Scheldt	309
<i>tributaires</i>	RU	Boom (BE)	Rupel	98
	DU	Durme (BE)	Durme	114
	DE	Dender (BE)	Dender	136
	L1	Wervicq (FR)	Lys	232
	L2	Erquinghem-Lys (FR)	Lys	254
	L3	Aire-sur-la-Lys (FR)	Lys	289
	D1	Wambrechies (FR)	Deûle	252
	D2	Don (FR)	Deûle	273
	SC1	Nivelle (FR)	Scarpe	239
	SC2	Brebières (FR)	Scarpe	281
	SE	Férin (FR)	Sensée	281

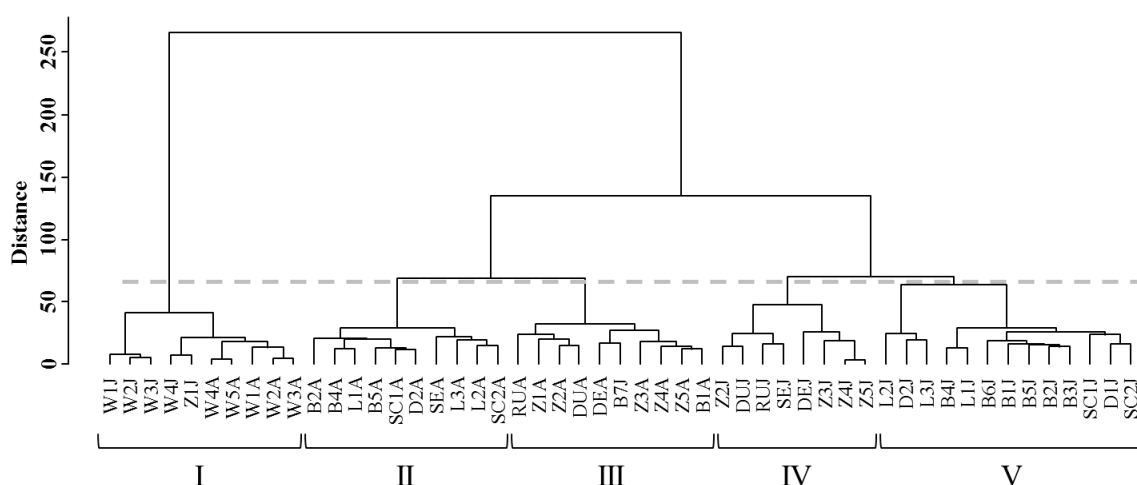


Fig. 19 Dendrogramme résultant de la classification hiérarchique des échantillons d'avril 2013 et juin 2015. Les codes des sites sont suivis de la lettre A pour avril 2013, et de la lettre J pour juin 2015.

Une classification ascendante hiérarchique des stations, basée sur les communautés zooplanctoniques a permis d'identifier différentes zones successives (en référence aux 'functional process zones' définies par le concept de Thorp et al., 2006), principalement liées au gradient de salinité, à la saisonnalité et à l'influence de la marée. Les zones suivantes ont pu être identifiées :

- la zone non estuarienne d'eau douce (incluant les stations de BIOFOZI), caractérisée par les températures et concentrations en oxygène les plus élevées, et par des concentrations en Chla également importantes. Les rotifères sont dominants dans cette zone, et on y trouve également des copépodes (principalement cyclopoïdes) et des cladocères.
- la zone estuarienne d'eau douce (incluant Melle, Dendermonde et Uitbergen), avec des concentrations en Matière Organique et Inorganique importante, et les plus fortes concentrations en Chla et pheopigments. Dans cette zone les rotifères sont toujours présents mais les cyclopoïdes et cladocères sont moins abondants, tandis que les calanoïdes (en particulier *Eurytemora affinis*) et les nauplii deviennent plus abondants.
- la zone saumâtre, où la salinité augmente brutalement, et s'accompagne d'une forte diminution d'abondance et de diversité zooplanctonique, notamment des espèces d'eau douce telles que les rotifères, cyclopoïdes et cladocères. Cette tendance est en accord avec la théorie de Remane (1934).
- la zone marine, avec une forte salinité et une faible température. Dans cette zone on trouve presque exclusivement des calanoïdes, avec des intrusions d'espèces marines, ce qui permet à la diversité d'augmenter à nouveau.

Sur la totalité de l'Escaut, une influence des tributaires sur la composition des communautés zooplanctoniques est suggérée, soit directement par l'apport d'organismes, soit indirectement en induisant des changements de conditions environnementales qui soit profitent soit sont néfastes aux organismes présents.

II.4.6. Expériences de tolérance

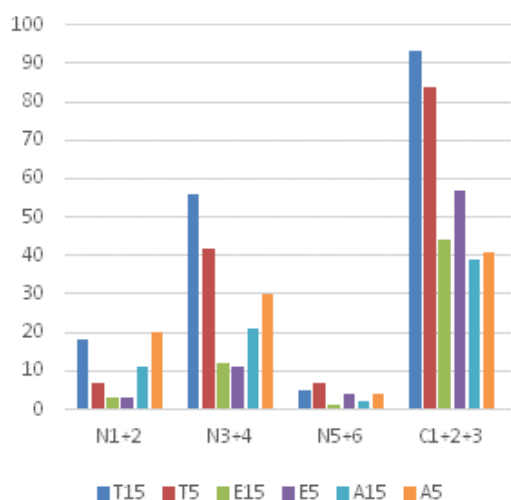


Fig. 20. Composition de la population d'*E. affinis* après 7 jours d'exposition aux conditions témoin (T15 et T5) et à une eau prélevée aux stations d'Erquinghem (E15 et E5) ou d'Aire-sur la Lys (A15 et A5). La somme des individus obtenus dans les 3 répliques est présentée sur l'axe des Y. Les stades de développement correspondent aux individus produits par les femelles ovigères. N : nauplius (6 stades, groupés en 1-2, 3-4 et 5-6) C : copépodites.

Les résultats de l'expérience menée en avril 2015 sont montrés en Fig. 20. Pour la souche d'*Eurytemora affinis* isolée de la Seine (souche de référence), la différence entre les témoins et les deux traitements semble être associée à la qualité globale de l'eau du site d'étude qui reste néanmoins viable pour la population de ce copépode. Nous avons constaté que la faible salinité de 5 PSU semble être plus favorable aux deux traitements. Nous avons donc retenu cette population pour les tests ultérieurs ainsi que la faible salinité plus proche des conditions de conductivité observées sur le terrain. De même, nous avons acclimaté, durant au moins 2 générations, la culture de masse d'*E. affinis* à la salinité 5 PSU avant de réaliser les prochaines expérimentations.

En conclusions partielles de cette première expérimentation, nous pouvons dire que :

- L'incubation de femelles ovigères d'*E. affinis* dans de l'eau provenant de deux stations BIOFOZI a permis de confirmer la viabilité de cette espèce dans des conditions de la colonne d'eau de ces deux stations.
- La différence entre les témoins et les traitements pourrait être un indicateur global de la qualité de l'eau.
- Le test à court terme (7 jours) a permis de mettre au point le protocole expérimental et valider la faisabilité de cette nouvelle approche.

Les expériences de juin 2015 ont eu une durée différente, en effet, il a fallu plus de temps pour obtenir les femelles ovigères de la génération F1 du témoin que dans l'eau provenant des deux stations de BIOFOZI. La Fig. 21 permet de voir qu'il y a plus de nauplii, de copépodites (C1-C4), de C5 mâle et femelle, ainsi que de mâles adultes dans le témoin. Nous pouvons également voir qu'il y a plus de femelles adultes dans l'eau d'Aire-sur-la-Lys et d'Erquinghem que dans le témoin. Il y a des différences significatives (Kruskal-Wallis : $P < 0,05$) pour les stades copépodites, nauplii, mâle adulte et femelles ovigères.

Il y a significativement (ANOVA non paramétrique (KW) et test post hoc : $p < 0,05$) plus de copépodites dans le témoin que dans l'eau d'Aire-sur-la-Lys et d'Erquinghem. Concernant les nauplii, il y a significativement ($p < 0,01$) plus de nauplii dans le témoin que dans l'eau d'Aire-sur-la-Lys et d'Erquinghem. Il y a significativement ($p < 0,01$) moins de femelles ovigères dans l'eau d'Aire-sur-la-Lys que dans le témoin et l'eau d'Erquinghem. En ce qui concerne les mâles, il y a une différence significative en terme d'effectif ($p < 0,01$) entre les trois conditions. Les autres stades ne sont pas significativement différents ($p > 0,05$). En revanche, pour le C5 il y a une différence au niveau des comptages mais elle n'est pas significative.

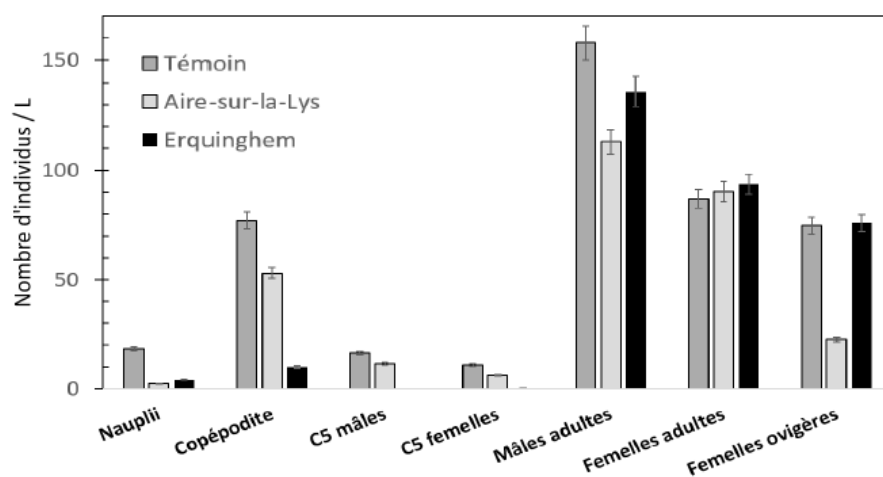


Fig. 21. Nombre d'individus par litre des différents stades (nauplii, copépodite, C5 mâle, C5 femelle, mâle, femelle et femelle ovigère) en fonction de trois conditions différentes : témoin, Aire-sur-la-Lys et Erquinghem.

La Fig. 22 montre une différence entre les mesures de la taille et la fécondité d'*E. affinis*. Tous les paramètres mesurés présentent une différence significative (Kruskal-Wallis : $p < 0,05$ pour la longueur et la largeur du prosome et $p < 0,01$ pour la fécondité). Le test à postériori permet de montrer que la longueur des femelles (Fig. 22A) est différente significativement entre les trois traitements, avec une valeur plus petite observée chez les témoins, suivie par le traitement avec de l'eau de Aire-sur-la Lys et enfin le traitement de l'eau de Erquinghem. En revanche pour la fécondité (Figure 22C), aucune différence significative n'a été trouvée entre les traitements avec de l'eau provenant des deux stations BIOFOZI.

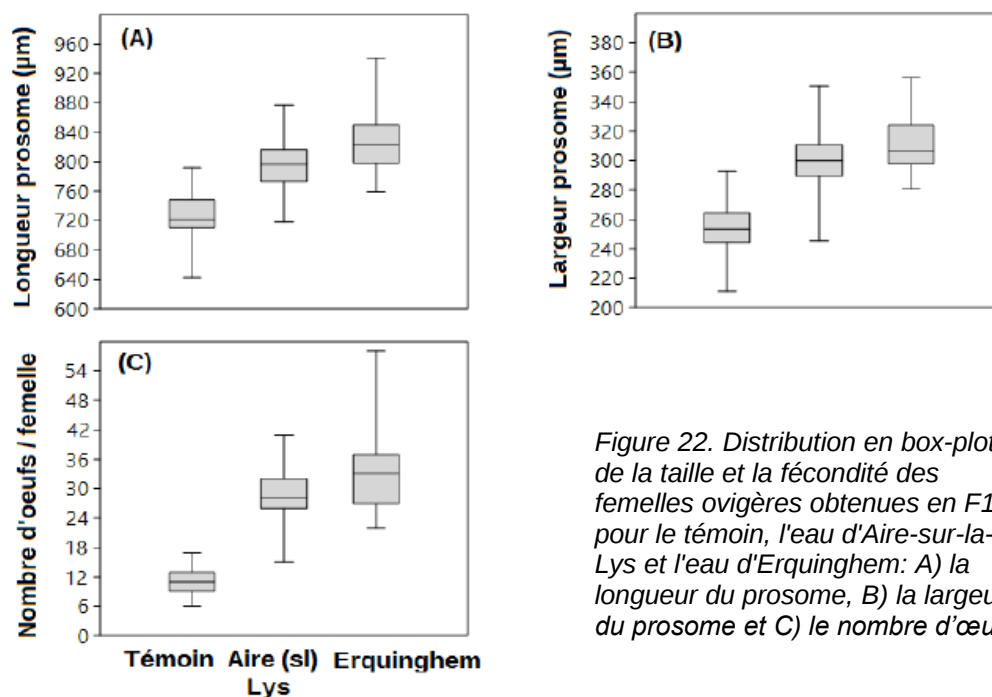


Figure 22. Distribution en box-plot de la taille et la fécondité des femelles ovigères obtenues en F1 pour le témoin, l'eau d'Aire-sur-la-Lys et l'eau d'Erquinghem: A) la longueur du prosome, B) la largeur du prosome et C) le nombre d'œufs.

Toutefois un effet 'apparent' positif observé à l'échelle individuelle (taille ou fécondité) pourrait masquer un effet négatif lié par exemple à la densité si la mortalité est plus forte avec le traitement avec polluants. Afin de comparer les différents traitements, nous avons donc eu recours à une standardisation des données de production de chaque cohorte. Ceci a été réalisé en calculant tout d'abord la production théorique d'une cohorte (génération) en multipliant la fécondité moyenne (nombre d'œufs/femelle) par le nombre de femelles incubées (génération F0) selon le protocole de Souissi et al. (2010, 2016). Par la suite, cette production théorique a été comparée avec la production réelle observée dans chaque condition expérimentale.

La Fig. 23 montre qu'il n'y a pas de différence significative entre la production théorique et celle du témoin (test Chi2 : $p > 0,05$). En revanche, il y a une différence significative entre la production théorique et la production réelle trouvée pour Aire-sur-la-Lys et Erquinghem (Chi2 : $p < 0,05$), la production réelle est inférieure à la production théorique.

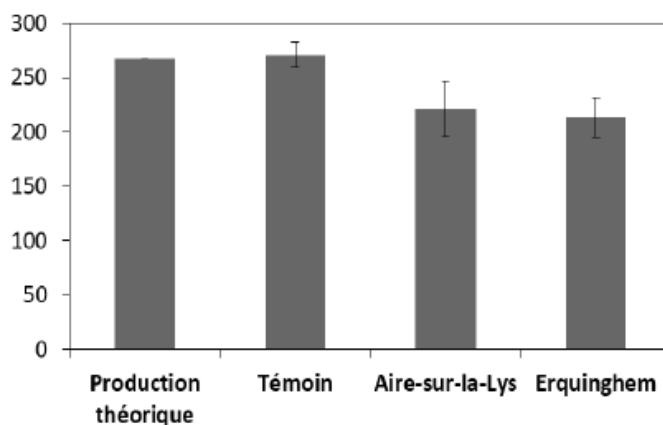


Figure 23. Comparaison de la production théorique avec la production réelle à la F1 pour les 3 conditions expérimentales. Les traits verticaux représentent les écarts types.

Ceci confirme, comme dans l'étude préliminaire (test réalisé lors de la campagne BIOFOZI d'avril 2015) que la mortalité observée durant le déroulement du cycle de vie d'*E. affinis* est plus forte dans le cas d'une exposition à l'eau naturelle provenant des deux stations BIOFOZI.

En conclusion de cette étude expérimentale, nous pouvons souligner que la différence de temps de développement entre témoin (à base d'eau distillée) et les traitements BIOFOZI peut s'expliquer par le fait que l'eau provenant des stations contient des éléments importants pour le développement des copépodes. À part cet effet positif logique, le cocktail de polluants présent dans l'eau provenant des stations BIOFOZI a engendré une mortalité supplémentaire qui a été différente en fonction des stades de développement.

Les stades adultes semblent plus impactés au niveau d'Aire-sur-la-Lys qu'à la station d'Erquinghem (Figure 5). En ce qui concerne Aire-sur-la-Lys, les stades juvéniles sont impactés, avec moins de nauplii et de copépodites que dans le témoin, mais le nombre de copépodites reste plus élevé que dans l'eau venant d'Erquinghem. Les stades adultes sont impactés par le cocktail présent dans l'eau de la station d'Aire-sur-la-Lys, surtout pour les mâles et les femelles ovigères qui sont nettement moins nombreux.

Etant donné le nombre de copépodites, et en comparant avec la station d'Erquinghem qui a des effectifs d'adultes plus proches du témoin, nous pouvons penser que l'eau d'Aire-sur-la-Lys ralentit la croissance de la population par rapport à Erquinghem.

En ce qui concerne l'eau venant de la station d'Erquinghem, les stades juvéniles semblent impactés mais les stades adultes sont proches en termes d'effectif du témoin, sauf pour les mâles adultes, qui sont visiblement plus sensibles au cocktail de polluants présent dans cette station.

Enfin, en ce qui concerne les traits morphologiques et la fécondité, les résultats montrent une fois de plus la grande plasticité de cette espèce qui peut ajuster sa stratégie reproductive en augmentant sa fécondité selon la densité observée.

II.4.7. Activité trophique du zooplancton dans le bassin versant.

Des expériences d'incubation ont été menées sur 5 des stations BIOFOZI lors de 4 campagnes. La Fig. 24 représente la composition de matière en suspension (MES) pour chaque expérience.

Des analyses pigmentaires par HPLC ont permis de quantifier l'impact de l'activité de broutage de la fraction de zooplancton comprise entre 50 et 250 μm sur les communautés de phytoplancton.

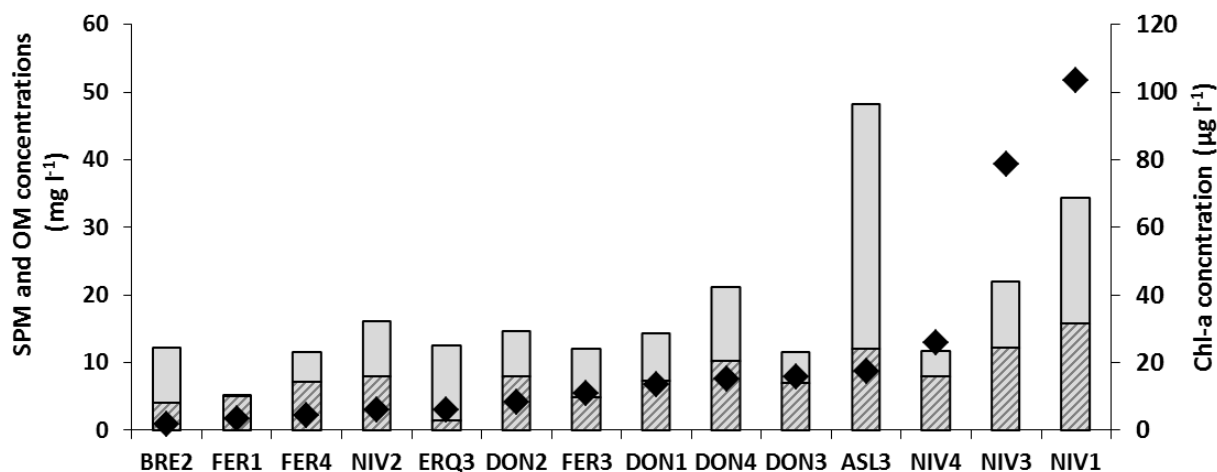


Fig. 24. Conditions trophiques pour les expériences d'incubation. Barres totales : MES ; barres hachurées : MO ; losanges : concentration en Chl-a. Les expériences sont classées en fonction de la concentration en Chl-a. Abréviations des stations : voir tableau 1. Numérotation : 1 : avril 2014 ; 2 : septembre 2014 ; 3 : avril 2015 ; 4 : juin 2015.

Les conditions trophiques de l'eau naturelle avec laquelle les expériences ont été effectuées sont représentées dans la Fig. 24. La concentration en MES variait de 5 à 48 mg L^{-1} , avec une contribution de matière organique (MO) de 11 à 97%. La concentration en Chl-a, représentant la biomasse totale de phytoplancton, était entre 1,8 et 103,6 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Les taux de filtration de la communauté zooplanctonique, représentatifs de sa pression de prédation, ont été calculés à partir des concentrations des différents pigments dans les flacons avec et sans zooplancton, au début et à la fin des expériences, selon la formule de Frost (1972). Les taux journaliers de broutage du zooplancton et de croissance du phytoplancton ont également été calculés, non seulement pour la Chla, mais aussi pour les autres pigments du phytoplancton, dont certains sont des pigments caractéristiques de certains taxons phytoplanctoniques.

Cette démarche a donc permis d'étudier à la fois la pression de broutage du zooplancton sur l'ensemble de la communauté phytoplanctonique, mais aussi sa sélectivité parmi les groupes phytoplanctoniques présents.

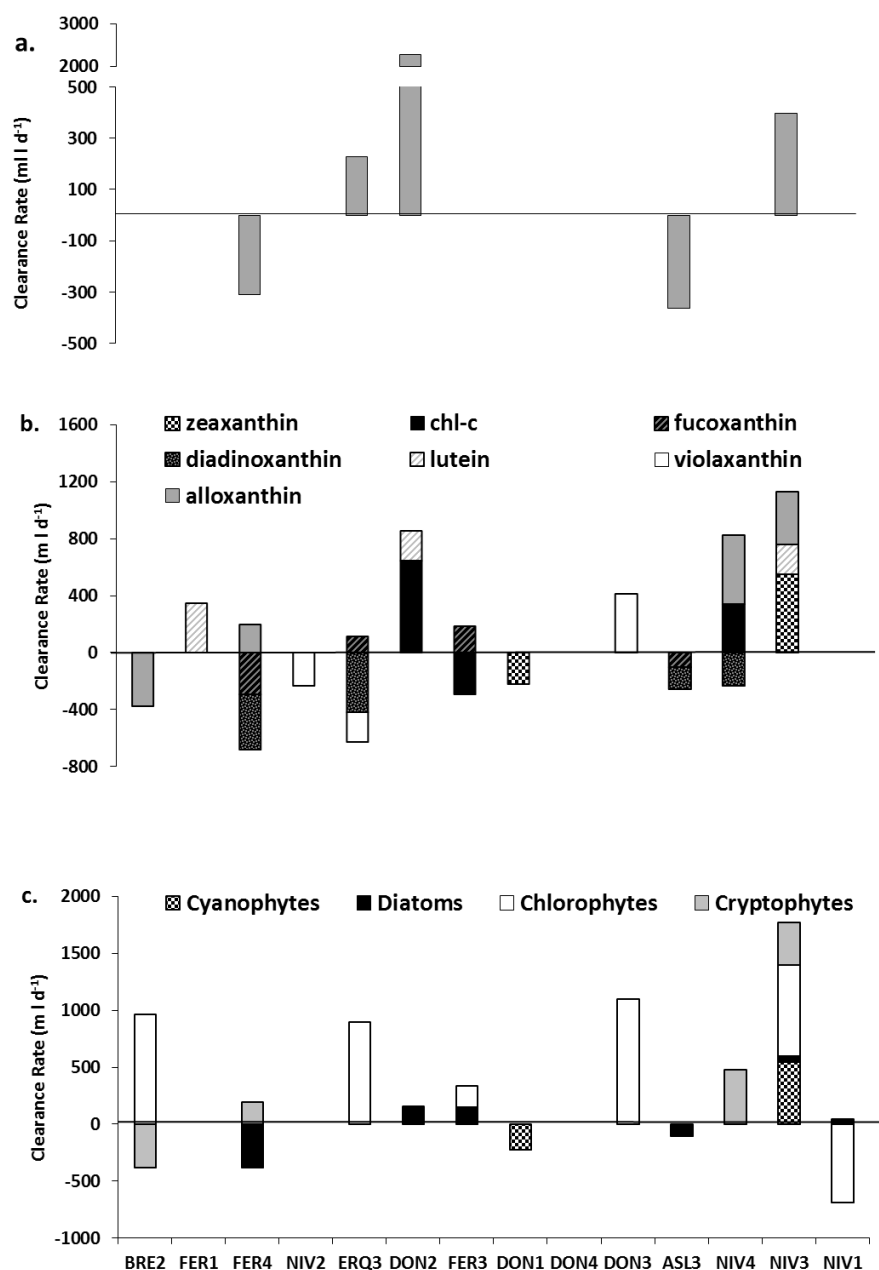


Fig. 25. Taux de filtration moyens (N=6) exercé par la fraction 50-250µm de la communauté zooplanctonique sur a) la Chla, représentant la biomasse phytoplanctonique totale, b) sur des pigments marqueurs de groupes de phytoplancton et c) sur la somme des pigments marqueurs pour chaque groupe de phytoplancton.

Les résultats ont montré une activité de broutage variable, avec des valeurs de prédation variant de 23 à 228 % du stock par jour (en comparant l'ingestion en Chla à la concentration en Chla dans le milieu), et de 35 à 83 % de la croissance phytoplanctonique (en comparant la pression de broutage ; g mesurée sur la Chla avec le coefficient de croissance de la Chla), en particulier pour les algues Chlorophytes et Cryptophytes. Une possible pression de prédation sur les cyanophytes est évoquée par un impact détecté sur un pigment marqueur de ce groupe, la zéaxanthine, mais demande à être confirmée par des identifications microscopiques, puisque la zéaxanthine peut également être trouvée chez les Chlorophytes. En revanche, les réponses différaient entre les différents marqueurs de diatomées, suggérant que la fraction étudiée exerce un broutage sélectif au sein des diatomées (Fig. 25).

Ces taux sont importants mais ne suffisent pas à surexploiter le phytoplancton puisque celui-ci présente des taux de croissance qui compensent cette consommation.

Les calculs de taux de filtration ont également montré des valeurs négatives dans certains cas, suggérant un impact du micro-zooplancton compris dans la fraction $< 50\mu\text{m}$, limité en présence de zooplancton de taille supérieure. C'est à dire, des organismes microzooplanctoniques $< 50\mu\text{m}$, qui mangent du phytoplancton, sont dans les bouteilles avec du zooplancton $> 50\mu\text{m}$,) potentiellement mangés par ce zooplancton $> 50\mu\text{m}$, ce qui n'est pas le cas dans les bouteilles contrôles avec uniquement la fraction $< 50\mu\text{m}$ de plancton (phyto et micro-zoo). Cette 'cascade trophique' peut donc réduire le broutage sur le phytoplancton par des organismes $< 50\mu\text{m}$, et cette réduction peut, dans certaines circonstances, dépendantes de la composition des communautés zooplanctoniques, être plus importante que le broutage du phytoplancton par du zooplancton $> 50\mu\text{m}$.

Ces résultats montrent donc un double rôle du zooplancton, qui exerce une activité trophique substantielle et sélective sur le phytoplancton, tout en limitant sa diminution trop importante en se nourrissant des micro-organismes phytoplanctonophages.

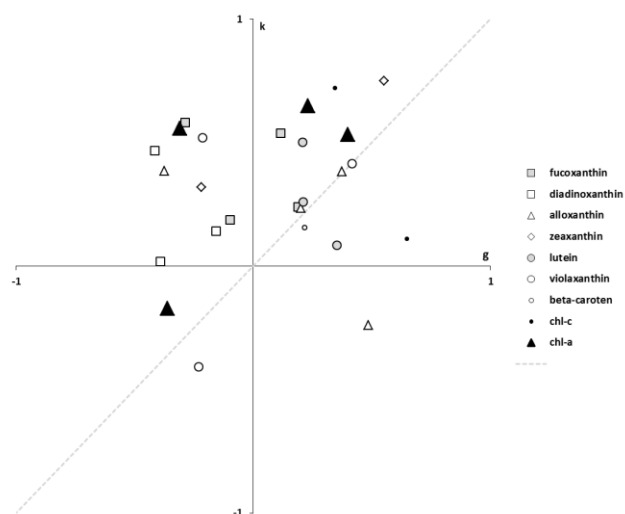


Fig. 26. Coefficient de croissance du phytoplancton (k) en fonction de la mortalité du phytoplancton due au broutage (g) par la fraction de zooplancton $50\text{-}250\mu\text{m}$. La ligne grise interrompue est la bissectrice en dessus de laquelle la croissance est plus élevée que le broutage et en dessous de laquelle le broutage est plus important que la croissance.

II.5. Discussion et Conclusion

Quatre questions avaient été formulées dans le cadre du projet BIOFOZI. Les études menées dans le cadre du projet ont permis d'émettre certaines réponses à ces questions. Celles-ci sont développées ci-après :

1) « Quelle est l'abondance et la diversité des communautés zooplanctoniques ? »

Les seules données disponibles sur le zooplancton des cours d'eau du bassin versant de l'Escaut étaient celles de l'étude de Lebon et al., (1997) sur la Scarpe et de la Petite Sensée. BIOFOZI présente donc pour la première fois un inventaire et des abondances de zooplancton sur 18 stations situées sur différents cours d'eau du bassin versant de l'Escaut, et ceci pendant 5 campagnes.

Les résultats ont montré des abondances substantielles de zooplancton dans les stations étudiées (en moyenne $4.33 \times 10^5 \pm 9.84 \times 10^5$ ind. m^{-3} en considérant les 5 campagnes d'échantillonnage). Ce résultat est intéressant. Il démontre que, contrairement aux idées reçues, les systèmes d'eaux courantes ne sont pas forcément pauvres en zooplancton. Les abondances observées sont même comparables à celles retrouvées dans certains milieux lacustres : par exemple des abondances de l'ordre de 10^5 à 10^6 ind. m^{-3} ont été trouvées pour les lacs Blaarmeersen (Belgique, Van Gremberghe et al., 2007), Loosdrecht (Pays- Bas, Gulati et al., 1992), ou dans les lacs du Québec (Pace, 1986). L'explication se trouve dans le fait que l'Escaut est un cours d'eau de plaine, prenant sa source à une altitude de seulement 95 mètres, ce qui provoque des débits modérés. De plus, les cours d'eau étudiés sont en grande partie canalisés et leurs débits régulés.

Les assemblages de zooplancton sont largement dominés par quelques taxons de rotifères, et comportent également des copépodes (majoritairement des stades nauplii, et des copépodites et adultes de cyclopoïdes, mais aussi quelques calanoïdes et harpacticoides) et des cladocères comme c'est le cas dans la plupart des milieux d'eau douce de rivière (voir par exemple Kobayashi et al., 1998 ; Lair et al., 2006). Nous avons distingué 33 taxons différents, avec 22 rotifères et 11 crustacés (copépodes et cladocères). Exception faite d'*Eurytemora. affinis*, les moyens du projet n'ont pas permis de déterminer les copépodes à l'espèce ou même au genre, car cela est très intensif en travail ; Néanmoins, les échantillons sont préservés au formol et gardés à EcoLab, ce qui les rend disponibles pour l'éventuelles recherches spécifiques ou des déterminations plus avancées.

Le complexe d'espèces *E. affinis* a été suivi avec une attention particulière pour deux raisons : premièrement, c'est une espèce typiquement estuarienne, qui s'est développée les dernières décennies dans beaucoup de systèmes d'eau douce, aux Etats Unis (Lee & Bell, 1999, Lee et al., 2013), comme en Europe (Winkler, et al., 2011) au point d'être caractérisée comme 'espèce invasive' (Lee & Bell, 1999, Lee et al., 2013, Winkler et al., 2008). Dans l'estuaire de l'Escaut, *E. affinis* était décrite comme une espèce typiquement printanière en eau saumâtre (Sautour & Castel, 1995; Soetaert & Van Rijswijk (1993). En parallèle avec l'amélioration de la qualité de l'eau dans le tronçon d'eau douce de l'Escaut, *E. affinis* s'est, depuis 2007, fortement développé, en eau douce et les copépodes cyclopoïdes, qui dominaient en eau douce auparavant, ont quasiment disparu (Mialet et al., 2011 ; Chambord et al., 2016). Il a été démontré que, pour que *E. affinis* puisse se développer dans une eau il faut une concentration en $O_2 > 4 \text{ mg L}^{-1}$ et en $N-NH_4 < 2 \text{ mg L}^{-1}$ (Mialet et al., 2010, Chambord et al., 2016). Les concentrations en O_2 et $N-NH_4$ mesurées sur toutes les campagnes du projet BIOFOZI répondaient aux conditions permissives pour *E. affinis*. Les observations BIOFOZI ont montré qu'*E. affinis* est effectivement présent dans le bassin amont jusqu'à Aire sur la Lys et Fresnes sur l'Escaut, mais en abondances limitées (maximum de 270 ind m^{-3} , comparé à 8000 ind. m^{-3} dans l'estuaire d'eau douce).

E. affinis est aussi une espèce bien étudiée, dont le cycle de vie est bien connu et contrôlé en culture de laboratoire (Devreker et al., 2009, Souissi et al., 2010). Elle est utilisée comme organisme test pour en écotoxicologie (Calleaud et al., 2009 ; Michalec et al., 2016), et a été utilisée pour tester l'effet de la qualité de l'eau des deux stations BIOFOZI sur un organisme zooplanctonique (voir réponses à la question 4).

2) « Quelle est la part de l'abondance et de la diversité du phytoplancton qui est expliquée par l'abondance et la diversité de la communauté zooplanctonique ? »

Les expériences d'incubation ont démontré une activité de broutage importante du zooplancton qui, bien que n'entraînant pas la déplétion des communautés phytoplanctoniques dont la croissance est compensatrice, régule probablement leur développement. Il est en effet important de souligner que la fraction 50-250 μm des communautés zooplanctoniques exerce une pression sélective sur le phytoplancton, en particulier sur les Chlorophytes. Les Cryptophytes sont aussi consommées, ainsi que les diatomées, mais dans une moindre mesure. Cette sélectivité implique donc probablement un rôle structurant du zooplancton sur la composition de la communauté phytoplanctoniques.

Le dosage des concentrations des différents groupes de phytoplancton par HPLC pour des expériences d'incubation a été récemment développé pour la partie estuarienne (Chambord, 2016). Le manque d'infrastructure à proximité des cours d'eau échantillonnés pendant les campagnes BIOFOZI nous a amenés à incuber directement *in situ* et à étudier l'activité de broutage de la fraction 50-250 μm de zooplancton plutôt que d'isoler certains organismes à étudier et incuber en laboratoire. Les résultats étant satisfaisants, ce nouveau protocole expérimental sera continué, voire étendu à des incubations de plusieurs fractions de zooplancton, dans des études similaires, comme dans la mesure de l'activité trophique de zooplancton de la Seine, par exemple.

Par ailleurs, les résultats suggèrent un autre rôle de la fraction 50-250µm de zooplancton, qui est de consommer une partie des prédateurs (de taille < 50µm) du phytoplancton.

Enfin, une activité de broutage sur les cyanobactéries a été évoquée. Cependant, ces résultats doivent être confirmés par observation microscopique ou par une recherche plus précise sur les pigments marqueurs des cyanobactéries de la région, car la zéaxanthine seule ne suffit pas à identifier les cyanobactéries.

Il était prévu d'obtenir une plus grande précision des taxons de phytoplancton sélectionnés à travers des comptages des échantillons fixés au formol au microscope. Un stage de master a montré que ces analyses sont trop intensives et longues en temps pour être utilisées dans la pratique. Les concentrations en MES élevées rendent la détection et quantification des différents taxons phytoplanctoniques très difficile. La seule expérience qui a pu être analysée au microscope a démontré une sélectivité pour les genres *Dydimocystis* (chlorophyta) et *Pseudanabaena* (cyanophyta), confirmant les résultats des analyses HPLC (Nguyen, 2016).

3) « Comment se comparent les caractéristiques (abondance, diversité) des populations zooplanctoniques dans les cours d'eau en amont du bassin versant de l'Escaut avec celles observées en aval ? »

La description de la distribution du zooplancton de la source à l'embouchure de l'Escaut, en relation avec les conditions physico-chimiques et trophiques qui s'y succèdent, a permis de mettre en évidence l'existence de quatre zones fonctionnelles : d'amont en aval : la zone non tidale (c'est-à-dire sans influence de la marée) ; la zone estuarienne (avec influence de la marée) d'eau douce, la zone estuarienne d'eau saumâtre et la zone estuarienne marine. Les communautés du tronçon d'eau douce non tidale, de l'amont, dominées principalement par quelques taxons de rotifères vivant dans des conditions d'eau douce où les concentrations en oxygène et en chlorophylle a sont élevées, se distinguent clairement des communautés de la zone estuarienne d'eau douce, plutôt caractérisée par la présence de copépodes calanoïdes plus abondants (en particulier *Eurytemora affinis* et les nauplii), et une abondance de cyclopoïdes et de cladocères plus faible. Les taxons d'eau douce diminuent ensuite drastiquement en eau saumâtre estuarienne, et dans la partie de l'estuaire le plus en aval, bien que quelques rotifères subsistent, les espèces d'eau salée (en particulier des copépodes) et les intrusions de taxons marins deviennent majoritaires.

Cette étude a clairement montré la plus-value de collaboration internationale en matière de compréhension du fonctionnement d'un cours d'eau transfrontalier. Cet aspect est développé plus en détail dans la rubrique 'Perspectives au-delà du projet'.

4) « Y a-t-il, dans des eaux courantes de plaine, des informations concrètes, utiles à l'évaluation et à la compréhension de la qualité de l'eau et de l'état du système, que l'on puisse obtenir par l'étude de l'abondance, de la diversité et des aspects de condition du zooplancton (condition morphométrique et nutritionnelle) ? Quelle est la plus-value de la prise en compte du zooplancton par rapport au système classique d'évaluation de la qualité de l'eau avec notamment les indicateurs de la DCE ? »

Au regard des résultats obtenus à l'échelle de la partie d'eau douce non tidale, la variabilité dans la réponse du zooplancton aux différentes conditions d'habitat reste très importante, que ce soit en considérant les conditions physico-chimiques générales, l'état écologique tel qu'il est évalué par la DCE ou les divers types de contamination explorés (HAP, PCB, phtalates, métaux traces, contamination totale, métaux totaux, Polluants organiques Persistants totaux).

Les travaux ont permis de mettre en évidence :

- Des distributions de communautés zooplanctoniques généralement corrélées à la distribution des facteurs environnementaux généraux, même lorsque les stations n'étaient pas géographiquement proches ou hydrologiquement connectées. Les conditions locales semblent donc jouer un rôle important dans l'abondance et la composition des communautés.
- Des réponses faibles et non systématiques du zooplancton à certains types de contamination, reflétant la complexité des interactions dans la communauté et de la combinaison de multiples pressions présentée dans le milieu, et pouvant agir de manière directe ou indirecte sur les différents organismes.

Bien que la stratégie d'échantillonnage pourrait probablement être améliorée de manière à obtenir des résultats plus significatifs (par exemple en « ciblant » certaines zones identifiées comme similaires à travers le bassin), l'utilisation d'un bio-indicateur nécessite une certaine prédictibilité, c'est-à-dire qu'il présente des caractéristiques similaires lorsque les conditions sont plus similaires. Or, nous n'avons pas pu mettre en évidence de réponse nette des communautés aux différences de conditions présentées dans le bassin versant, telles que quantifiées par nos mesures.

Il est possible que les communautés observées dans le bassin versant présentent une certaine « tolérance » à la pollution de ces milieux, et dans ce cas, un suivi à long terme pourrait permettre de détecter des évolutions de la qualité de l'eau, ce qui pourrait être utile par exemple dans le cadre de suivis de restauration.

Nous avons voulu tester via le volet expérimental la toxicité globale de l'eau brute obtenue à deux stations BIOFOZI (après filtration pour se concentrer sur la phase dissoute) sur une espèce sentinelle des milieux aquatique, le copépode calanoïde *Eurytemora affinis* observée dans le suivi BIOFOZI. Les résultats obtenus ont confirmé que la qualité globale de l'eau dans les deux stations BIOFOZI testées permet le développement de cette population. En revanche, l'exposition à l'eau prélevée *in situ* a permis d'identifier un impact direct sur la mortalité des différents stades de développement. Ceci pourrait expliquer que, même si les concentrations en O₂ et en NH₄ sont permissives pour *E. affinis* sur toutes les stations BIOFOZI, l'espèce ne s'y développe pas massivement comme dans la partie estuarienne de l'Escaut. Il serait intéressant de faire les mêmes tests avec de l'eau estuarienne.

L'information principale complémentaire à celle obtenue par les suivis DCE est la réalisation de l'importance du rôle trophique du zooplancton dans ces eaux courantes a priori non-supposé. Le zooplancton exerçant des pressions de prédation allant jusqu'à 35 à 83 % de la croissance phytoplanctonique, en particulier sur les algues Chlorophytes et Cryptophytes, montre qu'il est nécessaire de prendre en compte cette activité de broutage sélective dans l'interprétation des données sur le phytoplancton dans le cadre de la DCE. En plus, une activité de prédation sur les cyanophycées a été démontrée. Certaines études ont effectivement mis en évidence la capacité du zooplancton, et notamment des rotifères, à se nourrir de certaines cyanophycées (Starkweather & Kellar, 1983; Weithoff & Walz, 1995; Work & Havens, 2003). Des investigations plus poussées doivent donc être menées pour compléter nos résultats (voir aussi Valorisation).

III. Valorisation des résultats

III.1. Valorisation scientifique

Publications - Produites

- Net S., Rabodonirina S., Ben Sghaier R., Tlili I., Dumoulin D., Ouddane B. 2015. Distribution of phthalates, pesticides and drug residues in dissolved, particulate and sedimentary phases in freshwater system. *Sci. Total. Environ.*, 521 : 152-159.
- Rabodonirina, S., Net, S., Ouddane, B., Merhaby, D., Dumoulin, D., Popescu, T. & Ravelonandro, P. 2015. Distribution of persistent organic pollutants (PAHs, Me-PAHs, PCBs) in dissolved, particulate and sedimentary phases in freshwater systems. *Environmental Pollution*, 206 : 38-48.
- Ben Sghaier R., Net S., Ghorbel-Abid I., Bessadok S., Le Coz M., Ben Hassan-Chehimi D., Trabelsi-Ayadi M., Tackx M. & Ouddane B. Simultaneous detection of 13 Endocrine Disrupting Chemicals in Water by a combined of SPE-BSTFA Derivatization and GC-MS in transboundary rivers (France-Belgium)". Accepté avec corrections mineurs dans *Water, Air, & Soil Pollution*, octobre 2016.

Publications - Soumise et en préparation

Le Coz M., S. Chambord, P. Meire, T. Maris, F. Azémar, J. Ovaert, E. Buffan-Dubau, J.C Kromkamp, A.C. Sossou, J. Prygiel, G. Spronk, S. Lamothe, B. Ouddane, S. Rabodonirina S., Net, D. Dumoulin, J. Peene, S. Souissi & M. Tackx. Longitudinal distribution of zooplankton along a lowland water course: the Scheldt. Soumis à Hydrobiologia, octobre 2016.

Le Coz M., Chambord S., Buffan-Dubau E., Prygiel J., Azémar F., Ovaert J., Sossou A.C., Lamothe S., Julien F., Ouddane B., Rabodonirina R., Net S., Dumoulin D., Meire P., Sami Souissi S. & Tackx M. Zooplankton composition in the upstream Basin of a lowland water course (the Scheldt): spatial, inter-annual and seasonal variability". Soumis à Freshwater Biology, décembre 2016.

Le Coz et al. Grazing and selectivity patterns of zooplankton community in the upstream non-tidal rivers of the Scheldt watershed. En préparation.

Présentations orales et poster à des congrès internationaux

Le Coz M., Chambord S., Dumoulin D., Ovaert J., Net S., Sossou A.C., Azémar F., Buffan-Dubau E., Fernandez R., Ouddane B., Prygiel J., Meire P., Souissi S. & Tackx M. Spatial distribution of Zooplankton communities from source to mouth of the Scheldt River and estuary in relation to the Water Framework Directive evaluation methods. Présentation orale 'Symposium for European Freshwater Sciences' (SEFS) ; 5-10 juillet 2015, Genève, Suisse.

Le Coz M., Chambord S., Net S., Dumoulin D., Prygiel J., Sossou A. C., Fernandez R Maris T., Azémar F., Van Pelt D., Ouddane B., Souissi S., Meire P. & Tackx M. Spatial distribution of zooplankton communities and water chemistry in the upstream Scheldt basin: coupling and linkage with Water Framework Directive. Présentation orale 'Estuarine, Coastal and Shelf Science' conference (ECSA 2015); 6-9 septembre, 2015, Londres, RU.

Sossou A.C., Le Coz M., Chambord S., Maris T., Azémar F., Peene J., Buffan-Dubau E., Spronk G., Kromkamp J., Ovaert J., Meire P., Souissi S. & Tackx M. Zooplankton of the Scheldt river continuum. Poster. Présentation orale 'Estuarine, Coastal and Shelf Science' conference (ECSA 2015) ; 6-9 septembre, 2015, Londres, RU.

M. Le Coz, S. Chambord, J. Ovaert, E. Buffan-Dubau, S. Net, C. Sossou, D. Dumoulin, F. Azémar, B. Oudane, J. Prygiel, P. Meire, S. Souissi & M. Tackx. Zooplankton grazing pressure on phytoplankton along the Scheldt continuum: importance in a restoration context. Présentation orale à 'Estuarine Restoration: from theory to practice and back' (ECSA conference); 5-9 juillet 2016, Anvers, Belgique.

Tackx M., Azémar F., Buffan-Dubau E., Buyze E., Chambord S., Cox T., Dasseville R., Daveloose I., De Blok R., Le Coz M., Lionard M., Maris T., Mialet B., Meire P., Muylaert K., Ovaert J., Sabbe K., Souissi S., Sossou C., Van Damme S., Van Mieghem R., Van Pelt D., Van Wichelen J., Vyverman W. Restoration and the pelagic food web: questions. Présentaion Keynote à 'Estuarine Restoration: from theory to practice and back' (ECSA conference); 5-9 juillet 2016, Anvers, Belgique.

Masters et Thèses

Suzanna Rabodonirina a soutenu sa thèse de doctorat, intitulée 'Contaminants organiques (HAP, MHAP, PCB) en environnement : Etude de milieu naturel et de faisabilité de bioremédiation' à l'université de Lille 1, le 14 décembre 2015. Cette thèse était en partie basée sur des résultats du projet BIOFOZI. Directeur de thèse : B. Ouddane, LASIR.

Maiwen Le Coz a déposé son manuscrit de thèse intitulée "Distribution et rôle trophique du zooplancton dans le bassin versant de l'Escaut" à l'Ecole doctorale 'Sciences de l'Univers, de l'Environnement et de l'Espace' (SDUEE) de l'université de Toulouse en janvier 2016. La soutenance est planifiée le 27 février 2017. Directeurs de thèse : M. Tackx (EcoLab) et S. Souissi, LOG).

Nguyen Thi Kim Phuong, 2016. Grazing selectivity of *Eurytemora affinis* (copepod) in an estuarine reach and of microzooplankton in a riverine reach of the Scheldt watercourse: comparison of HPLC and microscopic analysis. Master Water Environment – Oceanography, University of Science and Technology of Hanoi, Vietnam. 30 pp. Encadrants: M. Tackx, EcoLab et W. Vyverman (PAE, Université de Gent, Belgique).

Base de données

Une base de données, EXCEL, regroupant, les facteurs environnementaux et les concentrations des polluants en phase particulaire et dissoute et les données sur l'abondance des différents taxons de zooplancton a été construite. Ces données sont disponibles à la Région Nord Pas de Calais-Picardie, la FRB et l'AEAP, sur demande à : michele.tackx@univ-tlse3.fr.

Valorisation grand public

Pendant les campagnes de terrain, de nombreux passants nous ont sollicités sur 'ce que l'on faisait'. Ces rencontres ont permis de les informer sur le projet BIOFOZI et les activités en matière de la gestion de la qualité de l'eau par la région et l'AEAP, ainsi que les activités de recherche des laboratoires participants au projet.

Les échantillons de zooplancton pris pendant les campagnes BIOFOZI sont actuellement exploités pour faire un livret et un poster sur le zooplancton dans les cours d'eau du bassin de l'Escaut : Sossou C., Azémar F., Le Coz M., Chambord S. & Tackx M. 'Partons à la découverte du zooplancton'. Un aperçu du contenu et quelques exemples de planches en Power Point sont mises en annexe 1. Le travail pour réaliser ce livret dépassant les possibilités du projet BIOFOZI, des concertations sont en cours avec l'AEAP pour un financement de la phase de finalisation. Le livret sera présenté comme un projet commun Région – AEAP et des exemplaires seront mis à disposition de la région.

III.2. Interactions avec les acteurs régionaux.

Le projet BIOFOZI nous a amené à interagir avec plusieurs instances impliquées dans la gestion de cours d'eau, en France, Belgique et au Pays-Bas. Des données en provenance du suivi DCE ont été fournies par l'agence de l'Eau Artois-Picardie, le service public de Wallonie et le Vlaamse milieu maatschappij. Des données hydrologiques sur le tronçon 'Zeeschelde' ont été calculées par le 'Waterbouwkundig laboratorium' (laboratoire d'hydrologie) du département ministériel de la mobilité et des travaux publics Flamands. Le site 'waterinfo.be' a été consulté pour des informations sur les débits dans la Zeeschelde. Pr. J. Prygiel (AEAP/ université de Lille) nous a conseillé sur plusieurs points en termes de disponibilités de données et d'interprétation des données DCE. Les 'Voies Navigables de France' nous ont fourni les autorisations pour les expériences *in situ* et les prélèvements.

A l'issue de ces travaux, une grande part de la variabilité du zooplancton reste inexpliquée. Ceci est probablement en partie dû à l'absence de données hydrologiques disponibles, qu'il serait nécessaire d'évaluer en tant que facteur explicatif de l'abondance et de la composition du zooplancton. Des suivis hydrologiques (débits, temps de résidence, vitesse de courants) seraient très utiles à la compréhension des profils de distribution à la fois du zooplancton mais aussi du phytoplancton (pris en compte actuellement dans la DCE) et des différents composés chimiques et des facteurs physico-chimiques dans le bassin hydrographique. Exception faite de la partie estuarienne en Flandre, (projet OMES), il a été impossible d'obtenir les données nécessaires auprès des instances de gestions concernées. Des mesures de débits sont disponibles pour plusieurs sites, mais par rapport aux possibilités de développement de zooplancton dans un tronçon donné, il faut pouvoir connaître le temps de résidence ou au moins la vitesse de courant moyenne. Voir aussi 'Perspectives au-delà du projet'.

L'importante pression de prédation sur le phytoplancton par le zooplancton, démontré par les résultats, représente un service écosystémique effectué par le zooplancton : la prévention d'efflorescences algales excessives. Dans les cours d'eau canalisés et riches en nutriments qui constituent le bassin versant amont de l'Escaut, certains taxons de cyanobactéries ont tendance à se développer en période estivale (par exemple les genres *Aphanocapsa*, *Planktothrix*, *Phormidium*, *Pseudanabaena* — comm. pers. AEAP). Des cas d'efflorescences ont également été rapportés dans la région (Prygiel & Leitao, 1994), et l'état des lieux réalisé en 2013 dans le cadre de la DCE décrit un pourcentage important de cours d'eau dans les bassins de la Lys et de la Deûle comme étant « potentiellement eutrophes » (Comité de Bassin Artois Picardie, 2013). Ces cours d'eau présentent des concentrations en nutriments propices à l'eutrophisation, mais les efflorescences ne se produisent pas. Dans un contexte de prévention, l'AEAP, par la personne du Pr. J. Prygiel a manifesté un fort intérêt dans cet aspect de l'écologie zooplanctonique.

III.3. Perspectives au-delà du projet

En matière de recherche (approfondir une question, créer des coopérations, faire le lien avec des recherches concomitantes...)

La collaboration entre biologistes et chimistes effectuée dans le cadre de BIOFOZI a amenée à l'application d'analyses de données nécessitant des approches transdisciplinaires (codage des données, analyses de correspondances de distributions...).

La thèse de Maiwen Le Coz, menée sur un financement du ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche, en parallèle avec le projet BIOFOZI, a substantiellement aidé la coordination des activités BIOFOZI (planification et coordination des campagnes de terrain, échanges de résultats etc.). Il y a eu deux sessions de 'comité de thèse' auxquelles ont participé les membres de BIOFOZI, ainsi que des experts extérieurs (Pr. W. Vyverman, PAE ; Université de Gent, Belgique et Dr. B. Mialet, chargé de mission DCSMM ; LIENS, La Rochelle).

Le projet BIOFOZI a permis de mettre au point un protocole *ex-situ* pour tester l'effet d'une eau prélevée sur le terrain sur la survie et le cycle de vie d'un organisme zooplanctonique. Ce protocole, basé sur un savoir-faire expérimental développé depuis plusieurs années au sein du LOG autour des cultures de copépodes pourrait éventuellement classer la qualité globale de l'eau entre différents sites et/ou différentes saisons en utilisant une approche standardisée et une souche cultivée au laboratoire.

Le projet BIOFOZI a également permis d'appliquer une méthode de mesure de broutage zooplanctonique '*in situ*' qui sera également appliquée dans le projet 'SENTINELLES' sur l'estuaire de la Seine (2017-2019 ; Financement Seine aval, coopération LOG, Université Catholique de l'Ouest, MMS-UCO et EcoLab, coordinateur Pr. S. Souissi). L'application de la méthodologie de dosage pigmentaire du phytoplancton en milieu riverain, appliquée jusqu'ici par EcoLab en milieu estuarien, a nécessité une extension de la 'bibliothèque' des standards pigmentaires, ce qui a permis à l'élargissement du potentiel analytique HPLC pigmentaire à EcoLab.

En matière de politiques publiques (pour la Région ou d'autres acteurs publics) et en matière de mesures de gestion ou préservation (plan de gestion, de sensibilisation...) pour des acteurs publics ou privés ou autres mesures.

En ce qui concerne la région Nord Pas de Calais-Picardie, BIOFOZI fournit une base de données combinant des données détaillées sur les facteurs environnementaux, les polluants en phase dissoute et particulaire et la composition et l'abondance des populations zooplanctoniques sur 14 à 15 stations et 3 à 5 campagnes réparties sur 3 saisons printanières (avril 2013, 2014 et 2015) et septembre 2014 et septembre 2015.

BIOFOZI a démontré que la population d'*Eurytemora affinis*, potentiellement invasive, est actuellement observée dans les stations BIOFOZI, mais en abondances limitées. Il serait intéressant de poursuivre une surveillance sur les communautés zooplanctoniques, afin de détecter l'évolution en dispersion et abondance de cette espèce dans le bassin amont de l'Escaut et son éventuel impact sur la diversité zooplanctonique. *Eurytemora affinis* est une espèce cryptique complexe et des études récentes ont démontré la possibilité d'identifier l'origine de sous-populations population à l'aide de marqueurs moléculaires et/ou morphologiques. (Sukhikh et al., 2016). Gasmi et al. (2014) ont démontré que les *E. affinis* observés récemment dans le tronçon d'eau douce de l'Escaut proviennent de la population de l'aval de l'estuaire, et non des tributaires en amont où l'espèce est également présente. L'identification de l'origine des individus observés en amont de l'Escaut et de la Lys pourrait être intéressante dans un contexte de connectivité des voies navigables, sujettes à gestion.

Comme mentionné auparavant, le rôle important du zooplancton dans la structuration et le contrôle des communautés phytoplanctoniques des cours d'eau étudié par BIOFOZI, et le potentiel de quantification d'une activité de broutage sur les cyanobactéries intéresse fortement l'AEAP.

Le livret 'Partons à la découverte du zooplancton' sera disponible pour le grand public via l'AEAP et la Région.

Finalement, BIOFOZI a clairement montré la plus-value de collaboration internationale en matière de compréhension du fonctionnement d'un cours d'eau transfrontalier. Le fait d'avoir obtenu des données sur tout le trajet de l'Escaut, de Crêvecoeur à Vlissingen, pendant des périodes rapprochées, a permis d'interpréter les résultats dans un contexte conceptuel écologique (river continuum (Vannote, 1980) et théorie de Remane, (1934)). La mise en évidence des 4 différentes zones fonctionnelles pourrait être prise en compte dans des considérations de gestion au niveau Européen comme la DCE, par exemple. En effet, deux des 4 zones fonctionnelles, notamment la zone d'eau douce non tidale et la zone d'eau saumâtre estuarienne sont transfrontalières. La première s'étend sur 3 différentes régions, gérées par différentes instances : le bassin Artois-Picardie, géré par l'Agence de l'eau Artois-Picardie en France, la région Wallonne (Belgique), sous la responsabilité du Service public de Wallonie et la Flandre (Belgique), où l'Escaut est géré par le service Waterwegen en Zeekanaal et la Vlaamse Milieu Maatschappij. La mise en évidence de l'homogénéité en termes de fonctionnalité de ces zones par la mise en relation des données sur le zooplancton et des facteurs environnementaux illustre la nécessité de plans de gestions transfrontaliers prenant en compte ces patterns écosystémiques.

Vu les problèmes rencontrés pour obtenir des données hydrologiques (notamment des temps de rétention des tronçons de cours d'eau), nous plaçons pour l'incorporation de plus d'information sur les temps de résidence et vitesse de courants dans les cours d'eau dans les bases de données consultables par les scientifiques et/ou le grand public.

Votre projet a-t-il déjà permis de nouer de nouvelles coopérations ? de monter de nouveaux projets ?

Les collaborations entre EcoLab, ECOBE et le LOG datent de longtemps, mais BIOFOZI a créé des liens entre EcoLab et l'Equipe Physico-Chimie de l'Environnement du LASIR (auparavant GEOSYSTEMES) de l'université de Lille 1 et ECOBE. La collaboration entre les partenaires de BIOFOZI s'étant très bien passée, nous avons, en 2015, déposé un projet 'BIOFOZI II', qui avait pour but d'approfondir la compréhension des interactions 'facteurs environnementaux- communautés zooplanctoniques' auprès de la région et la FRB. Ce projet n'a malheureusement pas été retenu pour financement, mais les collaborations sont poursuivies. Ceci sous forme de publications et présentations à des congrès internationaux en commun (voir 'Valorisation scientifique').

Au niveau des perspectives, concernant les tests de tolérance, nous pouvons nous limiter à deux axes majeurs. Le premier consiste à tester les principaux polluants préoccupants (ou présents dans les sites d'étude) séparément ou en cocktail artificiel pour comprendre leurs effets sur des organismes zooplanctoniques. Ces perspectives ont été initiées dans le cadre d'autres projets complémentaires à BIOFOZI en se focalisant sur 3 métaux trace (Cadmium, Cuivre et Nickel) et deux polluants organiques (HAP et Alkylphénols). Les premières conclusions de ces tests en considérant les concentrations réelles observées *in situ*, confirment que les polluants organiques et notamment les HAPs seraient plus toxiques pour les copépodes (au moins pour *Eurytemora affinis* comme modèle biologique). Encore plus important, certaines malformations au niveau des œufs ont été observées lors de l'exposition à des polluants (résultats non présentés ici) ou même à l'eau provenant des 2 stations BIOFOZI. Ces malformations engendrées par plusieurs effets toxiques (notamment reprotoxiques) sont faciles à identifier et pourraient être quantifiées lors d'un suivi *in situ* et/ou expérimental. Il est donc important de compléter l'observation *in situ* des effectifs observés par des indicateurs de qualité des individus pour évaluer la qualité écologique globale de l'habitat étudié.

Les développements méthodologiques concernant les expériences de broutage du zooplancton seront appliqués dans le projet 'SENTINELLES' sur l'estuaire de la Seine (cf. 'perspectives en matière de recherche').

IV. Remerciements

Le projet BIOFOZI a été financé par la Région Nord Pas de Calais et l'agence de l'eau Artois Picardie.

Maiwen Le Coz a bénéficié d'une bourse de thèse du ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche (2013-2016).

Pr. P. Meire, (ECOBE, Université d'Anvers) a mis à disposition la base de données du projet OMES, sur l'estuaire de L'Escaut.

Les données sur la partie aval de l'Escaut, utilisées dans l'article 'Longitudinal distribution of zooplankton along a lowland water course: the Scheldt' ont été obtenus grâce au projet 'MONEOS', - partie zooplancton EcoLab, financé par NIOZ/ Rijkswaterstaat – Pays – Bas.

Plusieurs personnes affiliées à plusieurs instances nous ont aidés à réaliser ce projet.

Nous remercions particulièrement : Mme M. Veyrières (Région NPDC - Conseil régional), M. J. Prygiel, M. C. Halkett, Mme M. Martorana et M. C. Lesniak (AEAP), M. J. Delvaux (Service publique de Wallonie et M. W. Gabriels (Vlaamse Milieu Maatschappij), mesdames E. D'haeseleer et E. Cornet et M. T. Verwoest (Waterbouwkundig laboratorium, Antwerpen, Belgique) P. Thijs, (Waterwegen en Zeekanaal NV, Antwerpen, Belgique) et A. Goffin et E. Dewitte (VLIZ, Ostende, Belgique), M. Guy Arzul, Mms C. Delottry et N. Bridoux (Voies Navigables de France).

V. Références

- Anneville, O., S. Souissi, F. Ibanez, V. Ginot, J. C. Druart & N. Angeli, 2002. Temporal mapping of phytoplankton assemblages in Lake Geneva: Annual and interannual changes in their patterns of succession. *Limnology and Oceanography* 47: 1355–1366.
- Comité de Bassin Artois Picardie, 2013. État des lieux des districts hydrographiques I Escaut, Somme et Côtiers Manche Mer du Nord — Meuse (partie Sambre). 148.
- Chambord S., Maris, T., Colas, F., Van Engeland, T., Sossou, A.C., Azémar, F., Le Coz, M., Cox, T., Buisson, L., Souissi, S., Meire, P. & Tackx, M, 2016. Mesozooplankton affinities in a recovering freshwater estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 177: 47-59.
- Devreker, D., S. Souissi, G. Winkler, J. Forget-Leray & F. Le Boulenger, 2009. Effects of salinity, temperature and individual variability on the reproduction of *Eurytemora affinis* (Copepoda; Calanoida) from the Seine estuary: A laboratory study. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 368: 113–123.
- Dufrêne, M. & P. Legendre, 1997. Species Assemblages and Indicator Species: the Need for a Flexible Asymmetrical Approach. *Ecological Monographs* 67: 345–366.
- Frost, B. W., 1972. Effects of size and concentration of food particles on the feeding behavior of the marine planktonic copepod *Calanus pacificus*. *Limnology and Oceanography*. 17: 805-815.
- Gasmi, S., M. Ferval, C. Pelissier, F. D'Amico, T. Maris, M. Tackx & L. Legal, 2014. Genetic diversity among the *Eurytemora affinis* species complex in the Scheldt estuary and its tributaries using ISSR-PCR marker assay. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 145: 22–30.
- Hamadou, R. B., F. Ibanez, S. Souissi & A. C. Cathelineau, 2001. Spatial analysis of hydrological and phytoplanktonic data of the Bay of Tunis. *Multivariate cartography. Mediterranean Marine Science* 2: 67–86.

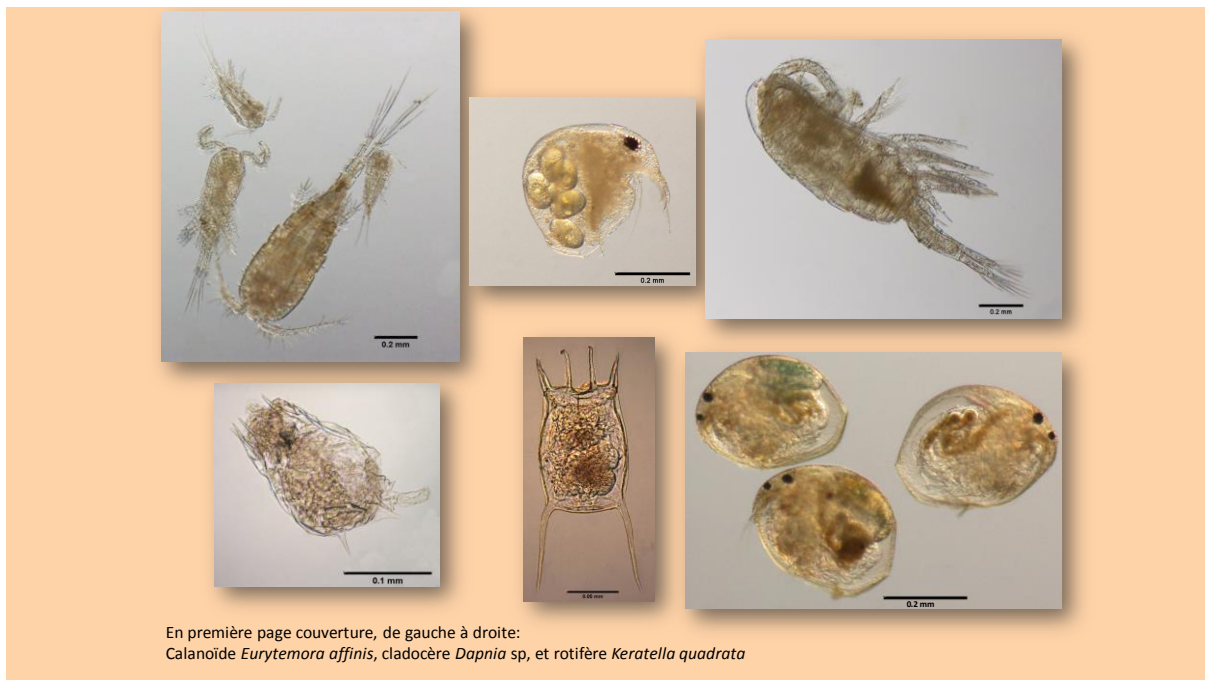
- Hanazato, T., 2001. Pesticide effects on freshwater zooplankton: an ecological perspective. *Environmental Pollution* 112: 1–10.
- Havens, K. E. & T. Hanazato, 1993. Zooplankton community responses to chemical stressors: A comparison of results from acidification and pesticide contamination research. *Environmental Pollution* 82: 277–288.
- Jenkins, D. G. & A. L. Buikema, 1998. Do similar communities develop in similar sites? A test with zooplankton structure and function. *Ecological Monographs* 68: 421–443.
- Lee, C.E. & Bell, M. A., 1999. Causes and consequences of recent freshwater invasions by saltwater animals, *Trends in Ecology & Evolution* 14: 284–288.
- Lee C.E, Moss, W.E., Olson, N., Chau, K.F., Chang, Y.M., Johnson, K.E., 2013. Feasting in freshwater: impacts of food concentration on freshwater tolerance and the evolution of food x salinity response during the expansion from saline into freshwater habitats. *Evolutionary Applications* 6 : 673–689.
- Lebon, V., 1997. Relations entre les populations planctoniques et la physico-chimie des eaux de la Scarpe et de la Petite Sensée dans la région de Douai (Nord).
- Majdi N., Tackx M., Traunspurger W. & Buffan–Dubau E., 2012. Feeding of biofilm–dwelling nematodes examined using HPLC–analysis of gut pigment contents. *Hydrobiologia*, 680: 219–232.
- Mialet, B., Azémar, F., Maris, T., Sossou, C., Ruiz, P., Lionard, M., Van Damme, S., Lecerf, A., Muylaert, K., Toumi, N. & Tackx, M., 2010. Spatial spring distribution of the copepod *Eurytemora affinis* (Copepoda, Calanoida) in a restoring estuary, the Scheldt (Belgium), *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 88: 116–124.
- Mialet, B., Gouzou, J., Azémar, F., Maris, T., Sossou, C., Toumi, N., Van Damme, S., Meire, P. & Tackx, M., 2011. Response of zooplankton to improving water quality in the Scheldt estuary (Belgium). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 93: 47–57.
- Nguyen Tjhi Kim P., 2016. Grazing selectivity of *Eurytemora affinis* (copepod) in an estuarine reach and of microzooplankton in a riverine reach of the Scheldt watercourse: comparison of HPLC and microscopic analysis. Master Water Environment – Oceanography, University of Science and Technology of Hanoi, Vietnam. 30 pp.
- Odum, E. P., 1985. Trends Expected in Stressed Ecosystems. *BioScience* 35: 419–422.
- Prygiel, J. & M. Leita, 1994. Cyanophycean blooms in the reservoir of Val Joly (northern France) and their development in downstream rivers. *Hydrobiologia* 289: 85–96.
- Remane, A., 1934. Die brackwasserfauna. *Verhandlungen der Deutschen Zoologischen Gesellschaft* 36: 34–74.
- Sautour B., Castel, J., 1995. Comparative spring distribution of zooplankton in three macrotidal European estuaries. *Hydrobiologia* 311: 139–151.
- Soetaert, K. & P. Van Rijswijk, 1993. Spatial and temporal patterns of the zooplankton in the Westerschelde estuary. *Marine Ecology Progress Series* 97: 47–59.

- Souissi, A., S. Souissi, D. Devreker & J.-S. Hwang, 2010. Occurrence of intersexuality in a laboratory culture of the copepod *Eurytemora affinis* from the Seine estuary (France). *Marine biology* 157: 851–861.
- . Souissi, A., S. Souissi & J.-S. Hwang, 2016. Evaluation of the copepod *Eurytemora affinis* life history response to temperature and salinity increases. *Zoological Studies* 55:.
- Souissi S. & D. Devreker, 2012. Ecologie du copépode *Eurytemora affinis* : une espèce au centre du réseau trophique estuarien. Fascicules Seine-Aval 2.8. Editions GIP Seine-Aval, 1-58p.
- Souissi, S., F. Ibanez, R. B. Hamadou, J. Boucher, A. C. Cathelineau, F. Blanchard & J.-C. Poulard, 2001. A new multivariate mapping method for studying species assemblages and their habitats: Example using bottom trawl surveys in the Bay of Biscay (France). *Sarsia* 86: 527–542.
- Sukhikh, N., A. Souissi, S. Souissi, G. Winkler, V. Castric, A.-C. Holl, & V. Alekseev, 2016. Genetic and morphological heterogeneity among populations of *Eurytemora affinis* (Crustacea: Copepoda: Temoridae) in European waters. *Comptes rendus biologies* 339: 197–206.
- Starkweather, P. L. & P. E. Kellar, 1983. Utilization of cyanobacteria by *Brachionus calyciflorus*: *Anabaena flos-aquae* (NRC-44-1) as a sole or complementary food source. *Hydrobiologia* 104: 373–377.
- Vannote, R. L., G. W. Minshall, K. W. Cummins, J. R. Sedell & C. E. Cushing, 1980. The River Continuum Concept. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 37: 130–137.
- Weithoff, G., & N. Walz, 1995. Influence of the filamentous cyanobacterium *Planktothrix agardhii* on population growth and reproductive pattern of the rotifer *Brachionus calyciflorus*. *Hydrobiologia* 313–314: 381–386.
- Winkler, G., J. J. Dodson, & C. E. Lee, 2008. Heterogeneity within the native range: population genetic analyses of sympatric invasive and noninvasive clades of the freshwater invading copepod *Eurytemora affinis*. *Molecular Ecology* 17: 415–430.
- Winkler, G., Souissi, S., Poux, C., Castric, V., 2011. Genetic heterogeneity among *Eurytemora affinis* populations in Western Europe. *Marine Biology* 158: 1841–1856.
- Work, K. A. & K. E. Havens, 2003. Zooplankton grazing on bacteria and cyanobacteria in a eutrophic lake. *Journal of Plankton Research* 25: 1301–1306.

En annexe : Exemples de diapos servant à la rédaction du Livret 'PARTEZ A LA RENCONTRE DE LA BIODIVERSITE: LE ZOOPLANKTON'

Annexe 1. Exemples de diapos servant à la rédaction, du livret 'Partez à la rencontre de la biodiversité : le zooplancton'.





Matériel d'échantillonnage et analyse au laboratoire

Sur le terrain:



Pompe etseau d'eau servant au prélèvement de l'eau.



Le filet (maille 50 µm) dispose à sa base d'un collecteur pour recueillir le zooplancton.



Une touque de 50 L est utilisée pour vérifier le volume d'eau filtré.



Echantillon obtenu est recueilli dans un flacon auquel est ajouté de l'eau gazéifiée pour endormir les organismes et ensuite du formol 4% pour la conservation.

Au laboratoire



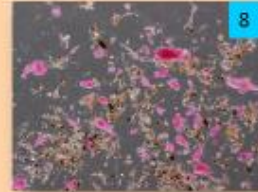
Echantillon coloré à l'érythrosine pour faire ressortir les organismes lors de l'identification.



Roulette de comptage, aiguille et compteur.

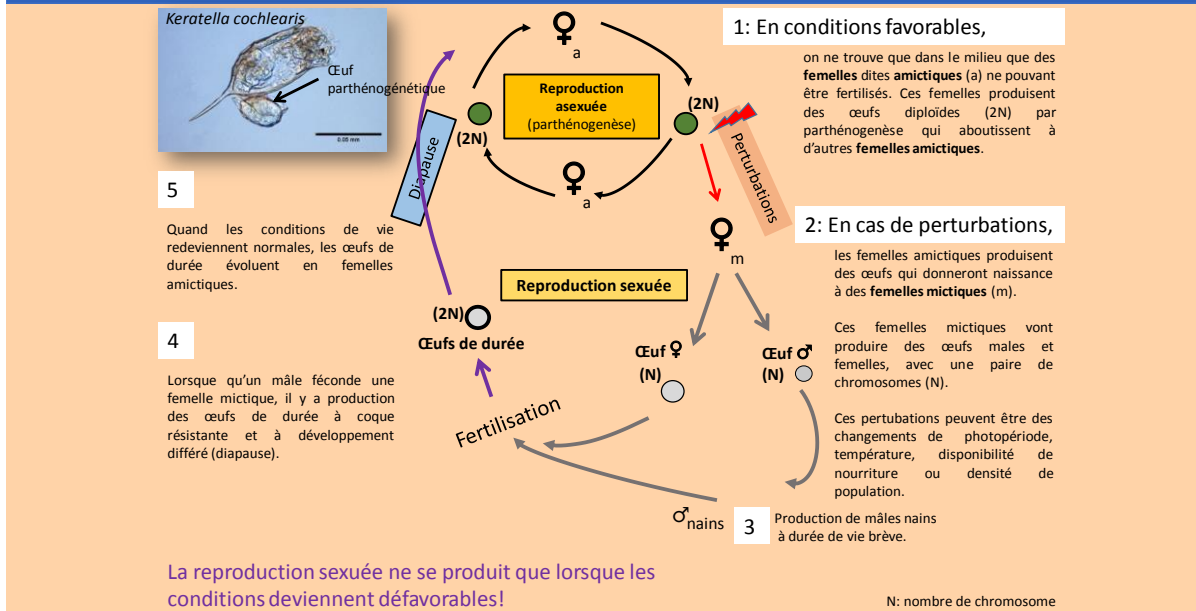


Loupe binoculaire pour l'observation, l'identification et le dénombrement.



Exemple d'une vue d'échantillon coloré sous binoculaire (agrandissement 90x).

Cycle de reproduction chez les rotifères



Cyclopides (O.F. Müller, 1776)

Arthropodes, crustacés,

Taille des adultes:

Longueur du mâle: 1,10 mm – 1,70 mm

Longueur de la femelle: 1,30 mm – 2,50 mm

Durée de vie: en moyenne un mois. Variable selon les espèces et les conditions environnementales.

Description:

Corps robuste et ovoïde.

La cinquième paire de pattes est réduite à deux soies et identique dans les deux sexes.

Furca relativement longue se prolongeant par des soies de longueurs différentes.



Habitat:

Se retrouve dans les petites collections d'eau à caractères temporaires, étangs, mares. Vivent souvent au voisinage du fond, et certaines espèces sont benthiques.

Ecologie et répartition :

Grande tolérance vis-à-vis des facteurs écologiques et une assez grande variabilité de formes.

Présente dans toute la zone tempérée, ils sont largement répartis en France.

Les cyclopides colonisent tous les milieux aquatiques, on les retrouve en eaux marines, saumâtres, douces, plus ou moins littorales et en eaux continentales.

