

DELANGLE Marjorie

Écologie et biologie des populations de Gallaselle(s) en Poitou-Charentes



Sous la direction de :

- François LEFEBVRE – Chargé de mission Gallaselles
- Catherine SOUTY-GROSSET – Chargée de recherche CNRS
- Roland RAIMOND – Maître de conférences

Structures d'accueil :

- **Vienne Nature** – 14 rue Jean Moulin - 86190 - Fontaine-le-Comte
- **Université de Poitiers – Écologie Biologie des Interactions, UMR 7267, équipe Écologie Évolution Symbiose** - 40 avenue du recteur Pineau – 86022 Poitiers Cedex

Du 17 février au 17 août 2014

Remerciements

Ce stage a été une expérience très enrichissante et ce, grâce à différentes personnes que je souhaite remercier.

Je tiens tout d'abord à remercier François Lefebvre, Catherine Souty-Grosset et Roland Raimond pour leur confiance en me choisissant pour ce stage, leur encadrement et leur aide tout au long des 6 mois. Merci à François et Catherine pour leurs relectures.

Je remercie également toute l'équipe de Vienne Nature, de Poitou-Charentes Nature et l'équipe EES pour l'accueil qui m'a été faite. Je remercie particulièrement les techniciennes du laboratoire (Catherine Debenest, Carine Delaunay, Maryline Raimond et Alexandra Lafitte) pour leur aide et leur temps pour les manipulations (PCR), ainsi que pour la mise à disposition du matériel pour l'élevage.

Ce stage a impliqué beaucoup de personnes que je remercie pour leur investissement :

- Les mairies et les particuliers qui ont donné l'autorisation de prospection de leur(s) puit(s) ;
- Les équipes de spéléologie (SCP et CDS79) pour leur participation au projet et leur gentillesse ;
- Florian Malard et Christophe Douady pour la vérification de nos échantillons ;
- Laurent Simon pour ses informations sur ses expériences sur Proaselles ;
- Alban Pratt pour toute son implication et ses propositions pour la suite du projet ;
- Fabio Ercoli (université de Jyväskylä) pour les analyses isotopes ;
- Michel Bonnessée pour l'aide lors de prospections, notamment au niveau botanique ;
- Michel Caillon pour l'aide sur la géologie et toutes ses connaissances.

Pour finir, je remercie mes rapporteurs pour la lecture et l'évaluation de ce travail.



Avant – Propos

Ce stage s'est inscrit dans le cadre d'une étude d'au moins 2 ans qui a débuté au 1^{er} juillet 2013 et qui a pour objectif d'étudier la faune aquatique souterraine du Poitou-Charentes et plus spécifiquement la Gallaselle (*Gallasellus heilyi* Legrand 1956).

Les analyses faites dans le cadre de ce stage prennent également en compte les données acquises lors du début de l'étude (entre le 1^{er} juillet 2013 et le 17 février 2014 (date de commencement du stage)).

Cette étude est née d'une volonté de protection de la Gallaselle, du fait de son caractère endémique, en tant que taxon parapluie pour la protection de l'ensemble de la faune aquatique souterraine. Un séminaire national sur la Gallaselle s'est déroulé en 2012 en amont de l'étude afin de faire le point sur les connaissances et les manques sur le sujet en vue de fixer au mieux les objectifs.

Elle est réalisable grâce à de nombreuses collaborations (spéléologues, chercheurs, naturalistes...) et des financements par la Fondation LISEA Biodiversité mais aussi par l'Agence de l'Eau Adour Garonne et la DREAL Poitou-Charentes.



Liste des abréviations

VN : Vienne Nature

PCN : Poitou-Charentes Nature

EBI : Écologie et Biologie des Interactions

EES : Écologie Évolution Symbiose

CNRS : Centre National de Recherche Scientifique

SCAP : Stratégie nationale de Création d'Aires Protégées

CDS86 : Comité Départemental de Spéléologie de la Vienne

CDS79 : Comité Départemental de Spéléologie des Deux-Sèvres

SCP : Spéléo-Club Poitevin

BRGM : Bureau de Recherches Géologiques et Minières

LEHNA : Laboratoire d'Écologie des Hydrosystèmes Naturels et Anthropisés

DREAL : Direction Régionale de l'Environnement, de l'Aménagement et du Logement

IGN : Institut Géographique National

SIGORE : Système d'Information Géographique de l'Observatoire de l'Environnement du Poitou-Charentes

APB : Arrêté Préfectoral de Biotope

Table des matières

Remerciements

Avant – Propos

Liste des abréviations

Présentation des deux structures d'accueil..... 1

Introduction 3

Présentation de la Gallaselle..... 8

Partie I – Inventaire de la stygofaune du Poitou-Charentes 11

1. Matériels et Méthodes..... 11

1.1 Les sites prospectés..... 11

1.2 Les méthodes de prospection..... 12

1.3 Effort d'échantillonnage 13

1.4 Conservation des échantillons 13

1.4 Élaboration d'une fiche collecte par site..... 14

1.5 Tri et détermination 14

2. Résultats..... 15

2.1 Généralités sur les sites prospectés..... 15

2.2 Renseignements généraux acquis sur les espèces trouvées 16

Partie II - Écologie des populations de Gallaselles..... 19

1. Analyses descriptives 19

1.1 Étude du préférendum d'habitat par Analyse en Composante Principale (ACP)..... 19

2.2 Étude des associations d'espèces par Analyse en Composantes Multiples 20

2.3 Discussion..... 21

2. Approche par tests statistiques sur les données physico-chimiques..... 22

3. Conclusion 22

Partie III – Biologie des populations de Gallaselles 23

1. Données acquises sur la Gallaselle..... 23

2. Présentation des sites ressources..... 24

3. Étude biométrique..... 27

4. Détermination du sex-ratio 29

5. Test de la présence de *Wolbachia*..... 30

Partie IV - Étude du régime alimentaire des Gallaselles..... 32

1. Pré-requis sur les connaissances sur le régime alimentaire 32

2. Approche expérimentale en élevage 33

2.2 Essais d'élevage..... 33

2.3 Expérimentation (Protocole 3)..... 37

3. Approche analytique par la méthode d'Analyse d'Isotopes Stables (AIS)..... 40

4. Discussion – Comparaison avec la méthode expérimentale (élevage) 43

Partie V - Propositions de mesures de conservation 44

1. Rappels des principaux enseignements de l'étude 44

2. Importance de la mise en place d'une mesure de protection 44

3. Outils de conservation à disposition 45

4. Arrêté Préfectoral de Biotope sur la commune des Roches-Prémarie-Andillé 46

Bibliographie..... 49

Annexes

Résumé

Présentation des deux structures d'accueil

Mon stage s'est effectué au sein de l'association Vienne Nature (VN) et du laboratoire Écologie et Biologie des Interactions (EBI) dans l'équipe Écologie Évolution Symbiose (EES) de l'université de Poitiers.

Vienne Nature est une association de type loi 1901, agréée au titre de la loi du 10 juillet 1976 sur la protection de la nature, et reconnue auprès du Ministère de la Jeunesse et des Sports comme Association de Jeunesse et d'Éducation Populaire. L'association a été créée en 1967.

Ses objectifs principaux sont :

- d'étudier les grands problèmes d'environnement : enquêtes et constitution de dossiers argumentés ;
- de contribuer à la connaissance et à la sauvegarde du patrimoine naturel de la Vienne ;
- de sensibiliser le public, les élus, les administratifs et les responsables socioprofessionnels à une meilleure prise en compte de la protection de l'environnement par des conférences, débats, publications, mais aussi des interventions en milieu scolaire et la formation des enseignants.

Pour atteindre ces objectifs, Vienne Nature acquiert des connaissances sur les milieux et les espèces par de nombreuses études et inventaires. Par la diffusion des résultats, le grand public et les dirigeants politiques peuvent être sensibilisés à la cause environnementale. Elle agit essentiellement à l'échelle départementale, mais elle est aussi largement impliquée dans les actions d'envergure nationale : SCAP, Trame Verte et Bleue, et collabore aux modalités de protection de l'environnement dans le cadre des mesures compensatoires consécutives aux grands chantiers autoroutiers et ferroviaires, notamment sur le dossier de la LGV Paris-Bordeaux.

L'association Vienne Nature est actuellement sous la présidence de Jean-Louis Jollivet, et comprend 8 salariés (Miguel Gailledrat, David Ollivier, Lucie Texier, Samuel Ducept, Nicolas Tranchant, Thibault Dumas, François Lefebvre et Muriel Bossy), ainsi que de nombreux bénévoles. L'association fait partie d'un réseau de diverses structures (Ligue de Protection des Oiseaux (LPO), Société Française d'Orchidophilie (SFO), Office Pour les Insectes et leur Environnement (OPIE),...), possède des associations membres (Association de Défense de l'Environnement de Migné-Auxances (ADEMA), Société Mycologique du Poitou (SMP), les Amis de la Pallu,...) ainsi que des partenaires associatifs (Conservatoire Régional d'Espaces

Naturels, CDS86,...). Elle a aussi divers partenaires financiers tels que la région Poitou-Charentes, le Conseil Général de la Vienne, l'Europe, le Crédit Mutuel...

Vienne Nature est affiliée à France Nature Environnement et Poitou-Charentes Nature Environnement (PCN). Cette dernière a été créée en 1971 à l'initiative des 4 associations départementales de Protection de la Nature et de l'Environnement (Charente Nature, Nature Environnement 17, Deux-Sèvres Nature Environnement et Vienne Nature) pour coordonner leurs actions au niveau régional. PCN est l'association porteuse du projet sur la Gallaselle.

Une partie s'est également déroulée au sein de l'équipe EES du laboratoire EBI de l'université de Poitiers dans le cadre de la mise en place de l'élevage et expérimentation sur les Gallaselles.

L'équipe EES est une équipe de l'Unité Mixte de Recherche EBI (UMR CNRS 7267) de l'université de Poitiers et de l'Institut Écologie et Environnement (INEE) du CNRS. Elle comprend une vingtaine de salariés. Les recherches de l'équipe EES portent sur l'analyse des associations symbiotiques et plus particulièrement sur l'étude des interactions entre les crustacés isopodes terrestres (cloportes) et les bactéries féminisantes qu'ils hébergent (*Wolbachia*).

Les travaux de l'équipe EES sont menés selon quatre axes de recherche étroitement liés et complémentaires :

- Génomique évolutive (responsable : Richard Cordaux)
- Interactome et phénotype étendu (responsable : Christine Braquart-Varnier)
- Fonctionnement et génétique des populations (responsable : Frédéric Grandjean)
- Biodiversité et qualité environnementale (responsable : Catherine Souty-Grosset)

Le laboratoire EBI est dirigé par Didier Bouchon et l'équipe EES est sous la responsabilité de Pierre Grève. Historiquement, c'est le fondateur de ce laboratoire Jean-Jacques Legrand qui a décrit et nommé pour la première fois en 1956 la Gallaselle.

Introduction

Les eaux souterraines constituent le plus vaste espace d'eau douce sur terre (97% des eaux douces dites non-englacées) (L'Volich, 1974 *in* Gibert *et al.*, 1994). De ce fait, elles forment le réservoir d'eau principal pour diverses activités anthropiques (besoins agricoles, domestiques et industriels). Aussi, les milieux souterrains ont une valeur socio-économique qui n'est plus à prouver. La valeur biologique de ces milieux est quant à elle moins connue. En effet, les eaux souterraines sont considérées comme étant un milieu extrême et hostile où la diversité est plus faible qu'en surface. Du fait de l'absence de lumière, la production primaire est quasi-inexistante, et les ressources y sont considérées comme limitées. En l'absence de photosynthèse, l'oxygène est en quantité plus faible qu'en surface ; on retrouve des taux compris entre 3 et 5 mg/L dans les eaux souterraines contre une moyenne de 7 à 8 mg/L pour les eaux de surface. Les apports d'énergie viennent donc de l'extérieur ; ces milieux sont dits allochtones. Il y a une forte stabilité journalière et saisonnière des paramètres physico-chimiques tels que la température ou encore le pH (Gonser, 2001). Les eaux souterraines sont un ensemble de milieux fragmentés et isolés où la dispersion est faible pour les individus y réalisant leur cycle de vie (Gibert *et al.*, 1994). De par ces caractéristiques, il est intuitif de penser qu'elles accueillent peu de vie. Pour autant, il existe une forte diversité d'espèces adaptées à la vie souterraine. En effet, les études réalisées sur cet écosystème ont montré que tous les types de biotope souterrain sont colonisés, depuis les zones équatoriales jusqu'aux zones subarctiques, des îles volcaniques aux continents, et des zones littorales aux zones de hautes montagnes. De plus, la stygofaune¹ est aussi bien retrouvée dans les eaux souterraines douces que saumâtres ou marines (Ferreira, 2005).

L'ensemble des adaptations que possèdent les organismes inféodés aux milieux souterrains est appelé le syndrome troglomorphe. L'adaptation à l'obscurité se caractérise par une anophtalmie et une dépigmentation. Les individus sont généralement de petite taille et ont un corps allongé en réponse aux espaces limités que peuvent offrir les milieux souterrains. Le milieu souterrain est caractérisé par une absence de grands vertébrés. Afin de parer aux ressources limitées, le métabolisme est réduit tout comme la fécondité et de ce fait la longévité est plus importante que pour les espèces de surface (Gibert *et al.*, 1994). De plus, les organes sensoriels autres que la vue ont un développement accru ; on peut noter par exemple une taille importante des antennes servant à la chémo-détection.

¹ Stygofaune : Ensemble de la faune des eaux souterraines. L'origine de ce terme provient de Styx, rivière qui traverse les enfers dans la mythologie grecque.

Pour illustration, différentes caractéristiques sont comparées dans le tableau I entre *Gammarus* sp. et *Niphargus* sp., deux taxons de crustacés amphipodes, les uns vivants dans les eaux de surfaces, les autres dans les eaux souterraines.

Tableau I – Comparaison des caractéristiques physiques et biologiques des Gammares et des Niphargus

(D'après Hamon, 2002)

Caractéristiques	<i>Gammarus</i> sp.	<i>Niphargus</i> sp.
Milieu de vie	Eaux douces de surface	Eaux douces souterraines
Anophtalmie	Non	Oui
Couleur	brun-verdâtre 	Blanc transparent avec quelquefois des taches rosées ou brunes 
Taille	6 - 12 mm	10 - 30 mm
Nombre d'œufs par ponte	environ 70	5 - 20
Durée de vie	2 - 4 ans	8 - 14 ans

Trois catégories d'espèces peuvent être définies selon leur affinité aux milieux souterrains. Les espèces stygoxènes correspondent aux espèces de surface n'ayant aucune affinité avec les milieux aquatiques souterrains ; elles s'y retrouvent de manière accidentelle. Au contraire, les espèces stygobies sont adaptées morphologiquement, physiologiquement et éthologiquement aux milieux souterrains où elles y réalisent tout leur cycle biologique. Entre ces deux types d'espèce, il existe des espèces stygophiles qui sont épigées² mais qui sont capables d'exploiter les ressources des milieux souterrains et d'y réaliser leur cycle vital de façon partielle ou totale.

La diversité d'espèces que l'on peut trouver dans les habitats souterrains peut être expliquée par plusieurs hypothèses (Sket, 1999). Tout d'abord, les prédateurs sont moins abondants que dans les habitats de surface. De plus, la spéciation est forte dans ces milieux du fait de leur isolement par la fragmentation. Cette dernière explique le fort taux d'endémicité. Les milieux souterrains sont considérés comme étant le type de milieu ayant le plus d'espèces endémiques (Gibert et al, 2009).

Divers habitats sont distingués pour les espèces de la stygofaune: les nappes souterraines, les rivières souterraines, les « œil » sources, les hyporhéos³.

² Espèce épigée : espèce réalisant son cycle biologique en surface

³ Hyporhéos : Couche de sédiments se situant sous le lit des cours d'eau, et au travers de laquelle se produisent des échanges hydrologiques entre les eaux de surface et les eaux souterraines profondes ; on parle également de sous-écoulement de cours d'eau.

Ces habitats sont accessibles *via* des structures naturelles (source, galerie souterraine) ou des structures aménagées par l'homme (puits, captage, fontaine) (figure 1). Ces points d'accès permettent d'étudier la faune stygobie.

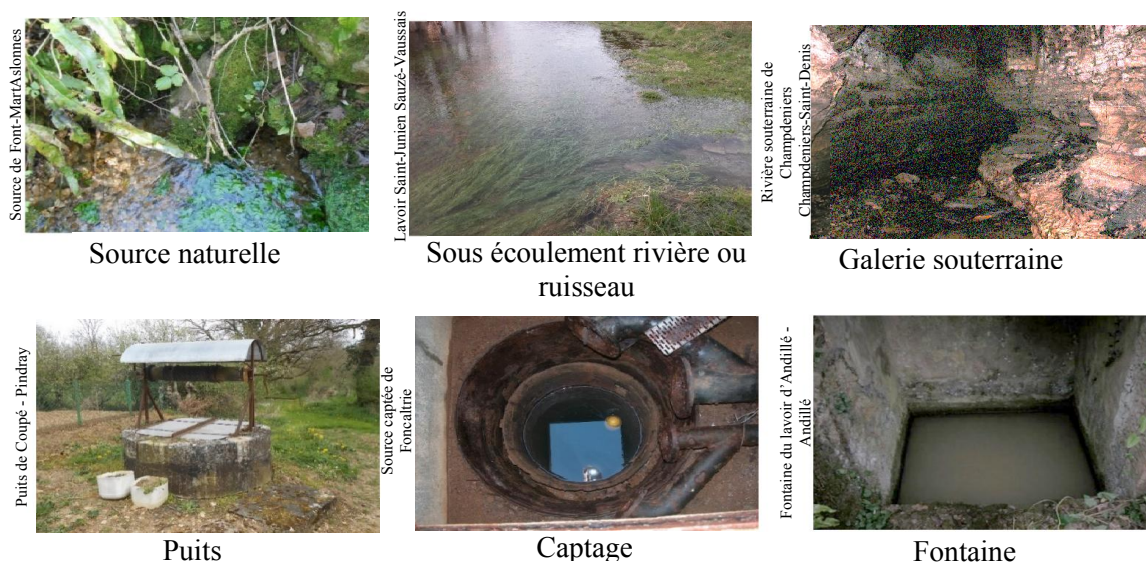


Figure 1 : Les différents points d'accès aux habitats souterrains

La diversité souterraine a été longtemps méconnue. Au 17^{ème} siècle, la découverte d'un amphibien, le Protée, *Proteus anguinus*, a véritablement été à l'origine des études sur les milieux souterrains à travers la biospéléologie. Le Protée (figure 2) fut décrit en 1768 par Laurenti, il constitue le seul vertébré stygobie en Europe et son aire de répartition se situe uniquement au niveau du karst adriatique (Hervant et *al.*, 2001). Un recensement mondial a été effectué par Botosaneanu (1986) qui montre une diversité de près de 7000 espèces et sous espèces majoritairement stygobies. D'autres études ont par la suite été faites avec de nouvelles descriptions d'espèces, mais aucun catalogue n'a été réalisé depuis celui de Botosaneanu. Une synthèse a été élaborée par Juberthie et Decu (1994, 1998 et 2001). En Europe, le nombre d'espèces stygobies estimé est proche de 3000 (Sket, 1999). Concernant la France, 380 espèces et sous espèces sont dénombrées. La faune stygobie française est considérée comme l'une des plus riches d'Europe (Ferreira, 2005).



Figure 2 : Protée (*Proteus anguinus*)

Dans l'état actuel des connaissances, ce sont les crustacés qui dominent l'écosystème aquatique souterrain avec 43% des espèces stygobies recensées dans le monde (tableau II). C'est aussi ce groupe taxonomique qui fait l'objet du plus grand nombre d'études grâce à des chercheurs spécialistes des différentes espèces. Ce qui n'est pas le cas pour d'autres taxons tels que les mollusques, dont la liste est loin d'être exhaustive et les espèces peu décrites. Ils représentent 7% des espèces stygobies connues. La caractérisation des espèces stygobies de ce taxon est moins évidente que pour les crustacés (Ferreira, 2005). Outre la prédominance des crustacés, on peut noter la proportion de 15% de protozoaires. Ce qui est remarquable en comparaison avec la diversité faunistique de surface, c'est la faible représentation des insectes dans la stygofaune. Ils ne représentent seulement que 0.36% des espèces inféodées au milieu souterrain (Botosaneanu, 1986 *in* Ferreira, 2005), alors que c'est le taxon le plus représenté dans les milieux de surface avec majoritairement des coléoptères (Gibert et Deharveng, 2002 *in* Ferreira, 2005)).

Tableau II : Recensement de la faune stygobie mondiale

Groupe zoologique		Faune mondiale	Stygofaune mondiale
Protozoaires		30800	1015
Autres Invertébrés		9300	481
Porifères		5000	15
Cnidaires			
Cténophores		9000	24
Turbellariés		12200	199
Nématodes		12000	322
Byrozoaires		4000	3
Brachiopodes		350	2
Mollusques		50000	456
Annélides		12000	510
Crustacés		39000	2870
	Cladocères		5
	Ostracodes		309
	Copépodes		997
	Rémipèdes		5
	Mystacocarides		13
	Syncarides		154
	Mysidacés		22
	Mictacés		1
	Isopodes		569
	Amphipodes		664
	Thermosbaenacés		10
	Décapodes		121
Insectes		751000	24
Arachnides		63000	590
Eéchinodermes		6100	5
Urochordés		1250	12
Céphalochordés		23	
Vertébrés		42580	106
	Agnathes	63	
	Chondrichthyens	843	
	Osteichthyens	18150	92
	Amphibiens	4184	14
	Reptiles	6300	
	Mammifères	4000	
Total		1047603	6634

D'après Gibert et Deharveng, 2002 *in* Ferreira, 2005

L'hétérogénéité des études portant sur la stygofaune concerne le domaine taxonomique mais aussi le domaine géographique. En France, certaines zones sont sous étudiées, les régions PACA, Rhône-Alpes et Midi-Pyrénées restent les plus prospectées.

En ce qui concerne le Poitou-Charentes, la faune aquatique souterraine est peu connue et seulement une dizaine d'espèces est répertoriée (mollusques et crustacés pour l'essentiel). On peut par exemple citer *Niphargus ladmiraulti* (figure 3) qui est communément surnommé « crevette des cavernes ». Un deuxième crustacé typique du Poitou-Charentes est *Caecosphaeroma burgundum* (figure 4), isopode stygobie qui a la particularité de pratiquer la volvation comme chez certains cloportes.



Figure 3: *Niphargusladmiraulti*



Figure 4 : *Caecosphaeroma burgundum*

L'une des espèces remarquables en faune stygobie du Poitou-Charentes est la Gallaselle, *Gallasellus heilyi* (Legrand, 1956). La Gallaselle est un petit crustacé stygobie endémique du centre-ouest de la France. Cette caractéristique a été soulignée dans la déclinaison régionale 2010 de la SCAP (Stratégie nationale de Création des Aires Protégées). De plus, la Gallaselle a été classée dans la catégorie « vulnérable » de la Liste rouge des espèces menacées en France (IUCN/MNHN, 2012). Par son statut, la Gallaselle a été ajoutée à la liste d'espèces menacées pour lesquelles une protection *via* des aires protégées est envisageable (cf. Christian Juberthie, président de la commission "Aires Protégées" au Conseil National de la Protection de la Nature et ancien chercheur au laboratoire souterrain de Moulis). Ceci en vue de répondre aux objectifs de la SCAP qui est de placer 2% du territoire terrestre métropolitain sous protection forte (actuellement, 0,51% en Poitou-Charentes). Dans ce cadre, la Gallaselle doit être vue comme étant une espèce parapluie, la mise sous protection de ses habitats permettant de protéger également le cortège d'espèces qui lui est associé. Une première réflexion sur le sujet s'est déroulée lors d'un séminaire national Gallaselle organisé à Poitiers en 2012. Plusieurs acteurs de diverses structures et régions de la France ayant des connaissances sur le milieu souterrain y ont participé⁴. Il a pu ainsi être mis en évidence les connaissances et les manques sur la faune stygobie du Poitou-Charentes et sur la Gallaselle.

⁴ F. Alamichel, spéléologue (SCP) ; F. Bichot, géologue (BRGM) ; D. Bouchon, biologiste phylo-généticien (Université Poitiers) ; J. Branciforti, responsable antenne Vienne du Conservatoire Régional d'Espaces Naturels de Poitou-Charentes (CREN) ; M. Caillon, hydrogéologue (PCN) ; A. Désiré, chargé de mission biodiversité (DREAL) ; D. Dinand, spéléologue (CDS17) ; C. Douady, biologiste phylo-généticien (Université Lyon 1) ; B. Fillon, chargé de mission (PCN) ; C. Fortin, chargé de mission eau (Observatoire Régional de l'Environnement

Cette étude a donc pour objectif d'approfondir les connaissances sur la faune aquatique souterraine et plus particulièrement sur la Gallaselle en Poitou-Charentes. Elle vise à déterminer la répartition de la Gallaselle et à caractériser son milieu de vie (caractéristiques physico-chimiques, espèces associées...). Afin de définir son rôle fonctionnel dans le milieu souterrain, cette étude a également pour but de déterminer son régime alimentaire. La finalité du projet est de pouvoir répondre aux demandes de la SCAP et ainsi de proposer une zone de protection et des mesures de conservation adaptées.

Présentation de la Gallaselle

Découverte de la Gallaselle (*Gallasellus heilyi* Legrand, 1956)

La Gallaselle a été découverte en 1955 dans la rivière souterraine de Bataillé dans les Deux-Sèvres par Gabriel Heily et décrite en 1956 par Jean-Jacques Legrand sous le nom d'*Asellus Heilyi*. Elle est alors caractérisée comme étant une espèce « unique en son genre ».

Caractéristiques

La Gallaselle (figure 5) possède toutes les caractéristiques d'une espèce stygobie. Elle est dépigmentée et dépourvue d'yeux. La Gallaselle a un corps étroit et allongé. Elle mesure de 4 à 6 mm. Elle possède de nombreuses cellules à urates, appelées cellules de Zinker, qui forment des concrétions blanchâtres visibles par transparence.



Figure 5 : *Gallasellus* sp. de 4,2 mm

(ORE)) ; P. Grève, biologiste (Université Poitiers) ; C. Juberthie, biospéléologue (SCAP) ; P. Juchault, ancien directeur de recherche CNRS ; F. Lefebvre, biologiste écologue (Vienne Nature) ; E. Lemoine, spéléologue et technicienne rivière (Syndicat Intercommunal d'Aménagement Hydraulique du bassin de la Seudre) ; F. Malard, hydrobiologiste (Université Lyon I) ; L. Marcillaud, conseillère régionale ; J-L. Rouy, spéléologue (CDS86)

Répartition connue

Avant le début de cette étude, 8 sites à Gallaselles étaient connues (figure 6 et annexe 1). Quatre sont situés en Charente-Maritime, 3 dans le département des Deux-Sèvres et un hors limite de la région Poitou-Charentes dans l'Indre. Sa présence n'est connue dans aucune autre zone que le centre-ouest de la France.

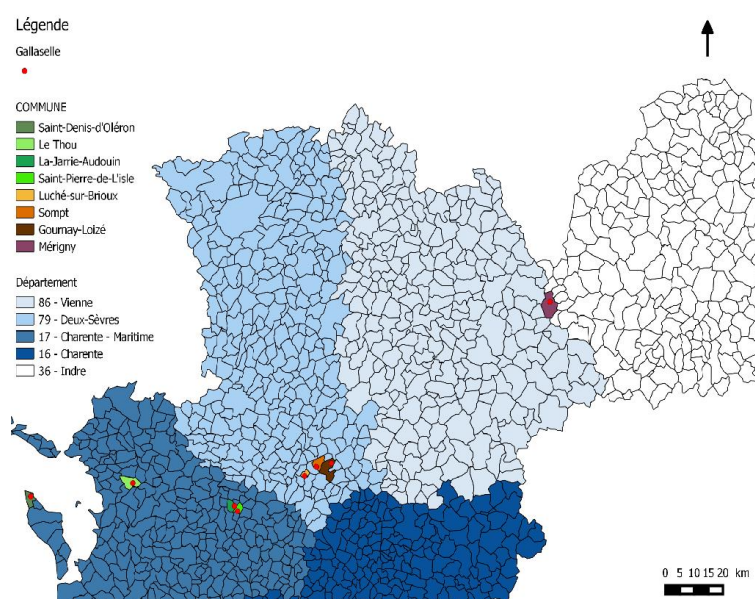


Figure 6 : Répartition connue de la Gallaselle avant 2013

Classification

La Gallaselle est un crustacé isopode de la famille des asellides dont il existe trois genres (*Asellus*, *Proasellus* et *Gallasellus*) ; cette famille regroupe des espèces de surface et des espèces stygobies.

La classification de ce nouveau genre est difficile à déterminer, elle est rapprochée par certains critères aux lignées européennes (*Proasellus cavaticus* et *Proasellus coxalis*) et par d'autres aux lignées américaines (*Caecidotea* spp.).

Des proximités morphologiques et moléculaires avec les caecidotés d'Amérique du Nord ont été démontrées. En effet, les paires d'appendices mâles sont proches morphologiquement et des études moléculaires (réalisées par F. Malard et C. Douady) ont révélées des similitudes génétiques. Cela suggérerait l'existence d'une lignée ancienne qui se serait scindée au moment de l'ouverture de l'Atlantique à l'ère secondaire.

Le fait que la Gallaselle soit une espèce souterraine endémique et donc obligatoirement autochtone argumente une appartenance différente au genre *Asellus* (Henry et Magniez, 1977).

En 1970, une collecte complémentaire est effectuée à Bataillé par Jean-Paul Henry et Guy Magniez. Une nouvelle description est faite par Henry et Magniez en 1977 et un nouveau nom est donné *Gallasellus heilyi* (Legrand, 1956).

Morphologiquement, la Gallaselle est considérée comme un genre monospécifique. Cependant des analyses moléculaires récentes suggèrent qu'il existerait trois espèces cryptiques que l'on ne pouvait pas distinguer à partir de critères morphologiques avant cette étude (Morvan *et al.*, 2013).

La première espèce cryptique (figure 7) a été trouvée dans le bassin de la Charente (résurgence de Sompt et Fontaine des Veuves) et de la Sèvre Niortaise (puits dans le village de Thou). La deuxième entité cryptique comprend des individus du bassin de la Charente (Fontaine des Veuves et Fontaine du Roi). À noter que des individus des espèces cryptiques 1 et 2 ont été retrouvés à la Fontaine des Veuves. La troisième espèce cryptique se trouve à la résurgence de Mérigny dans le bassin de la Loire. Actuellement, il y a un manque de données pour compléter ces informations et connaître la véritable répartition de ces espèces cryptiques. Cette étude a notamment pour but de compléter ces données préliminaires.

Dans la suite de ce rapport, la Gallaselle ne sera plus nommée *Gallasellus heilyi* mais *Gallasellus* spp.. *Gallasellus heilyi* ne pouvant faire référence qu'à l'espèce décrite initialement par Legrand (1956).

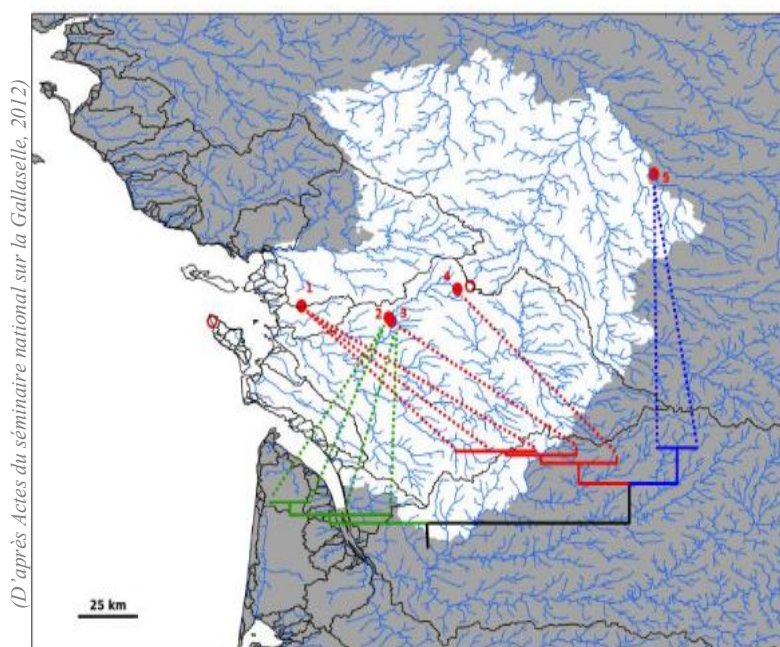


Figure 7 : Espèces cryptiques déterminées moléculairement
En rouge : Espèce cryptique 1
En vert : Espèce cryptique 2
En bleu : espèce cryptique 3

Informations connues sur la reproduction

La durée d'incubation des œufs dure un peu plus d'un mois (34-35 jours environ chez des femelles élevées) (Henry et Magniez, 1977). Cette durée est faible pour un asellide souterrain. En effet, chez *Proasellus cavaticus*, l'incubation dure 2 mois et demi (Henry, 1976 in Henry et Magniez, 1977) et 9-10 mois chez *Stenasellus virei* (Magniez, 1975).

Le nombre d'œufs est lui faible, Henry et Magniez ont relevé des effectifs de 6 à 19 œufs par portée dans leur élevage. La croissance et le développement sont rapides, les jeunes acquièrent leur péréiopode VII 20 jours après leur libération du marsupium⁵.

Pourquoi préserver la Gallaselle ?

Le caractère endémique de la Gallaselle impose sa protection pour éviter sa disparition et pour ceci une augmentation de la connaissance de cette espèce est primordiale.

La Gallaselle peut être considérée comme étant un point de comparaison entre les espèces de surface et les espèces souterraines. De plus, la Gallaselle pourrait permettre de connaître l'histoire évolutive des asellides en analysant les divergences génétiques par quantification des changements au niveau des gènes homologues.

Pour finir, la Gallaselle pourrait servir de base pour désigner la qualité de son milieu. Elle pourrait avoir un rôle d'épuration des eaux souterraines en matière organique et être un potentiel indicateur de pollution et donc par la suite être qualifiée d'espèce bio-indicatrice.

Partie I – Inventaire de la stygofaune du Poitou-Charentes

1. Matériels et Méthodes

1.1 Les sites prospectés

Les sites à prospecter sont recherchés sur carte IGN et/ou directement sur le terrain. Les mairies ont été sollicitées pour l'accès (autorisation et ouverture) à leurs éventuels puits. Les prélèvements en rivières souterraines ont été effectués grâce à la collaboration de spéléologues via le Comité Régional de Spéléologie (avec une participation très active du Spéléo-Club Poitevin (SCP), et du Comité Départemental de Spéléologie des Deux-Sèvres (CDS79)).

⁵ Marsupium : poche incubatrice ventrale

Avant prospection, des données propres au site sont examinées afin d'avoir un panel de sites différents. Cela permet également de remplir une première fiche appelée « fiche topo station » (annexe 2). Les données sur la localisation y sont d'abord reportées. Grâce à différentes sources d'information, la géologie (carte géologique, BRGM), les bassins versants (IGN, SIGORE), l'aquifère (SIGORE) et l'occupation du sol (Corine land cover 2006) sont recherchés et inscrits sur la fiche. De plus, des informations sur l'historique et toutes remarques sont indiquées. Enfin, la localisation sur carte IGN et des photos du site sont mises sur la fiche.

1.2 Les méthodes de prospection

Pour prospecter les sites, différentes méthodes, adaptées à chaque type de point d'accès à la faune stygobie sont utilisées (Figure 8) ; chaque méthode convient pour collecter des espèces de taille supérieure à 200 μm .

- Le filet Cvetkov ou filet phréatobiologique utilisé principalement pour les puits et les fontaines. Il est de type filet à plancton, rattaché à un collecteur en plexiglass, actionné de haut en bas *via* un long cordage dans le but de brasser la colonne d'eau pour décrocher le substrat et les éventuels animaux présents.

- Le filtrage substrat effectué grâce à un filet à main fait de toile de nylon et spécialement conçu pour cette étude. Il est aussi utilisé comme piège filtrant notamment aux niveaux des résurgences souterraines.

- Les pièges à habitat comme des souches de bois ou encore des pommes de pin déposés dans le milieu. Ils peuvent aussi être là naturellement (débris végétaux, pierres...).

- La méthode « à vue », utilisée sur les pièges à habitat mais aussi sur les parois des sites.

- Le piège à appât, constitué d'une bouteille en plastique contenant un diffuseur avec appât. Il ne s'est pas avéré efficace pour les Gallaselles mais plutôt pour *Niphargus* sp., il est donc trop sélectif.

- Le sondage Bou-Rouch, pompe utilisée pour les prélèvements dans l'hyporhéos.

Les principales méthodes utilisées dans le cadre de ce stage ont été le filet Cvetkov, le filtrage substrat et la méthode « à vue ». Cette dernière est principalement choisie pour collecter des Gallaselles en vue des élevages et expérimentation en laboratoire.

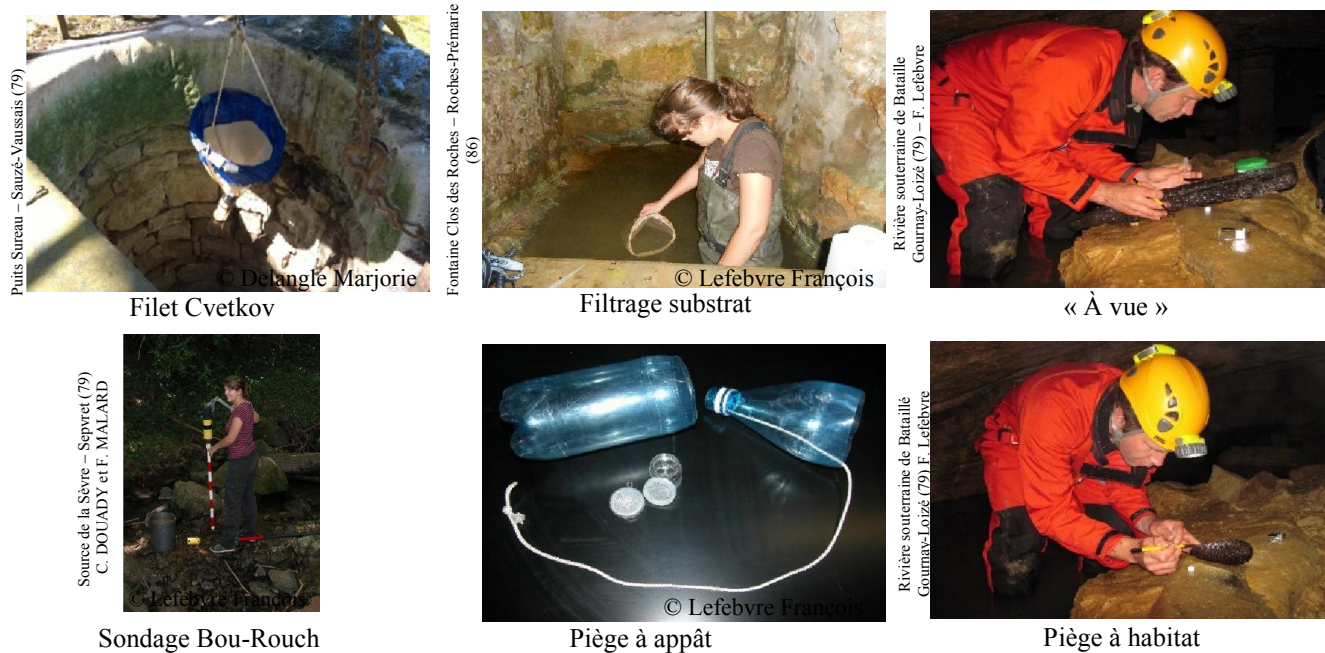


Figure 8 : Les différentes méthodes de prospection

1.3 Effort d'échantillonnage

Des méthodes de collecte différentes ont été utilisées selon les types de point d'accès aux eaux souterraines. Cela constitue un biais pour les résultats notamment pour la comparaison des abondances entre sites.

Cependant, pour chaque méthode, le même effort d'échantillonnage a globalement été appliqué :

- Filet Cvetkov : 2 brassages
- Filtrage substrat : 15 minutes
- Sondage Bou-Rouch : 2 fois 10 litres filtrés

1.4 Conservation des échantillons

Après la collecte, lorsque les échantillons ne peuvent être analysés directement, ils sont conservés dans de l'alcool supérieur à 95%, ce qui a été le cas notamment pour les prélèvements effectués par les spéléologues.

1.4 Élaboration d'une fiche collecte par site

Lors de chaque prospection une fiche nommée « Fiche collecte Gallaselles et Faune stygobie en Poitou-Charentes » est consignée (annexe 3). Sur cette fiche toutes les informations propres à la collecte sont notées :

- Nom(s) du/des collecteur(s), date et lieu (toponymie IGN)
- Coordonnées géographiques (Lambert 93)
- Type d'habitat et point d'accès à l'eau
- Croquis du site et localisation du point de collecte
- Nature du substrat et granulométrie
- Relevé faunistique et floristique (alentours immédiats du point de collecte)
- Attribution d'un identifiant unique à chaque prélèvement (PC + numéro de département + 3 initiales du site + numéro de collecte).
- Paramètres physico-chimiques de l'eau (à mi-hauteur de colonne) mesurés sur le terrain (analyses des collectes faites par les spéléologues en laboratoire)

La température (°C), le pH, la conductivité (Ev en mS/cm) et la turbidité (TDS en ppm) sont mesurés par une sonde portative multiparamètres (HANNA HI9813-6).

La concentration en oxygène dissous (mg/L) est mesurée grâce à un kit (HANNA HI3810) reposant sur la méthode Winkler. Cette méthode est basée sur le principe d'un dosage des ions iodes (quantité d'ions iode équivalente à celle en oxygène après multiplication par 10).

Les concentrations en ions ammonium (NH_4^+), phosphates (PO_4^{3-}), sulfate (SO_4^{2-}), nitrate (NO_3^-) et nitrite (NO_2^-) sont mesurés par des tests colorimétriques (QUANTOFIX). Pour les deux premières molécules, la quantification se fait après un mélange avec des réactifs, une bandelette est trempée dans la solution à analyser et la lecture se fait par comparaison avec une échelle de couleur. Pour les autres, une immersion suffit à l'estimation de la concentration.

Un prélèvement d'eau est conservé pour des analyses fines ultérieures.

1.5 Tri et détermination

Après la prospection, une étape de tri et de détermination des individus collectés est réalisée sous loupe binoculaire (OPTIKA – X7 – X45). Les individus sont triés selon leur groupe taxonomique (Turbellariés, Nématodes, Annélides, Mollusques, Hydracariens, Cladocères, Ostracodes, Copépodes, Amphipodes, Isopodes, Collembolés et autres insectes) ou leur espèce si elle est déterminée.

Ils sont conservés dans des tubes d'alcool (>95%) annotés (groupe taxonomique, date, lieu de prélèvement et observateur). Ils sont répertoriés sur une fiche appelée « fiche de tri et détermination - Gallaselles et faune stygobie en Poitou-Charentes » (annexe 4).

Les spécimens conservés sont destinés à des spécialistes de la stygofaune de chaque groupe pour une détermination plus fine. Les spécialistes sont : Florian Malard et Christophe Douady (laboratoire LEHNA de Lyon) pour les asellides, Claude Bou (chercheur indépendant d'Albi dans le Tarn) pour les amphipodes tels que les *Niphargus* sp., Alain Bertrand (Ariège Environnement Diffusion à Boussenac) pour les mollusques.

2. Résultats

2.1 Généralités sur les sites prospectés

Au total 60 sites (dont 8 avant le 17 février) ont été prospectés, 16 se situent en Deux-Sèvres et 44 en Vienne (figure 12). Ils appartiennent soit au grand bassin de la Loire (47 sites; majoritairement pour les sites de la Vienne), soit au bassin de la Charente (6 sites; Sud-Vienne et Deux-Sèvres) soit au bassin de la Sèvre Niortaise (6 sites; Deux-Sèvres) soit au bassin de la Creuse (1 site; Vienne). En ce qui concerne la géologie, 92% des sites affleurent sur des roches datant du Jurassique. La nature des roches du sous-sol varie entre des aquifères de socle⁶ (6,7%), des aquifères fissurés du Jurassique supérieur⁷ (5%), des aquifères karstiques du Dogger (53,3%)⁸, des aquifères karstique de l'Infratoarcien (11,7%), des aquifères sableux⁹ du Cénomani du Poitou (10%) et nappe alluviale¹⁰ du quaternaire (13,3%). Cette nomenclature provient du BRGM.

La majorité des sites prospectés ont été des puits (40%) et des galeries souterraines (29%) (figure 9). Le nombre de sites prospectés par les spéléologues est de 16.

Concernant les méthodes de prospection, le filtrage substrat (46%) et le filet Cvetkov (40%) ont été les plus utilisés (figure 10).

⁶ Aquifère de socle : Il est constitué de roches plutoniques (ex : Granite), et de roches volcanique (ex : Basalte) et de roches métamorphiques (ex : Schistes). En Poitou-Charentes, ils proviennent du Massif armoricains et du Massif Central.

⁷ Aquifère fissuré du Jurassique : Dans ce type d'aquifère, l'eau est contenue et circule dans les failles, fissures ou diaclases de la roche (calcaires, granites, coulées volcaniques etc.).

⁸ Aquifère karstique du Dogger : Il est créé par les écoulements d'eaux souterraines qui dissolvent certaines roches en particulier les calcaires.

⁹ Aquifère sableux : Dans ce type d'aquifère, l'eau est contenue dans les pores ouverts de la roche et peut y circuler librement (sable, craie, graviers, grès, scories volcaniques, etc.).

¹⁰ Nappe alluviale : nappe qui circule dans les sédiments des rivières, la nappe d'eau circule dans des terrains alluvionnaires.

Le filet Cvetkov est en effet la seule méthode pour prospecter les puits quant au filtrage substrat, il peut être qualifié de méthode polyvalente adapté à divers sites.

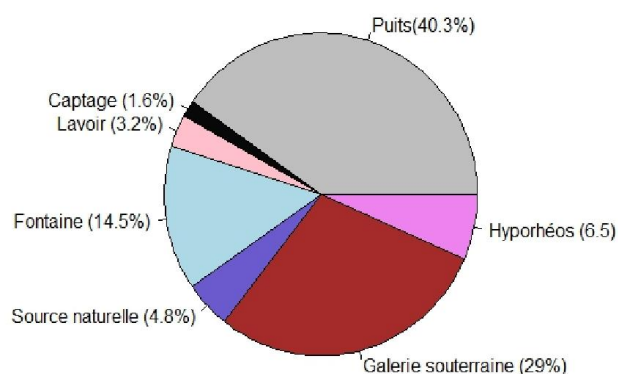


Figure 9: Proportion de prospection par type de point d'accès

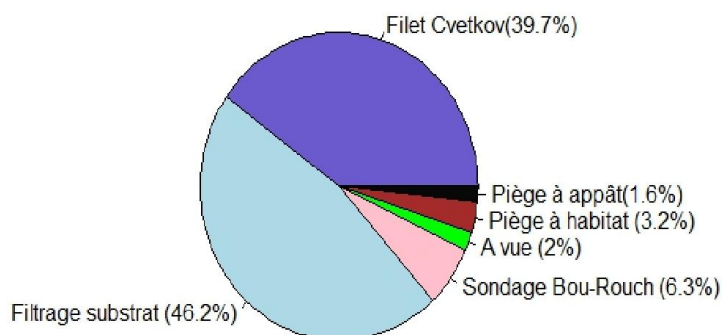


Figure 10 : Proportion des méthodes de prospection utilisées

Une critique peut être apportée concernant l'étendue de la prospection. En effet, comme il peut être remarqué sur la carte (figure 12), les collectes n'ont pas été faites de manière homogène sur les deux territoires. Des zones sont sur-prospectées alors que d'autres (une partie des Deux-Sèvres, nord-est et sud de la Vienne) sont vides de prospection. Ceci s'explique par le fait que les Gallaselles ont été majoritairement recherchées à proximité de Poitiers afin d'avoir des sites ressources en Gallaselles proche du laboratoire de la fac de Poitiers pour les élevages (deuxième partie de l'étude). De plus, les mairies contactées n'ont pas toutes répondues, ou non favorablement (absence de puits) aux demandes. Ainsi, sur la zone est de Poitiers, peu de mairies ont répondu.

2.2 Renseignements généraux acquis sur les espèces trouvées

La détermination des 60 échantillons a mis en évidence une diversité de taxons et d'espèces stygobies (tableau III et figure 11). Ce sont majoritairement des crustacés que l'on retrouve dans les habitats souterrains (présents sur 57 sites sur 60). Parmi ces crustacés, ce sont les copépodes qui dominent. La prédominance des crustacés va dans le même sens que les études antérieures faites sur la faune stygobie. La présence de mollusques et d'annélides est aussi importante avec 40 et 39 sites (respectivement) sur 60. Il faut aussi noter la présence des espèces de surface sur 45 sites. La majorité de ces individus s'y retrouvent de manière accidentelle. Néanmoins, certains acquièrent des caractéristiques similaires à celles des individus typiquement stygobies. Pour illustrer cela, les aselles de surface peuvent être citées. En terme de biodiversité, seule une estimation par taxon a été réalisée (tableau III).

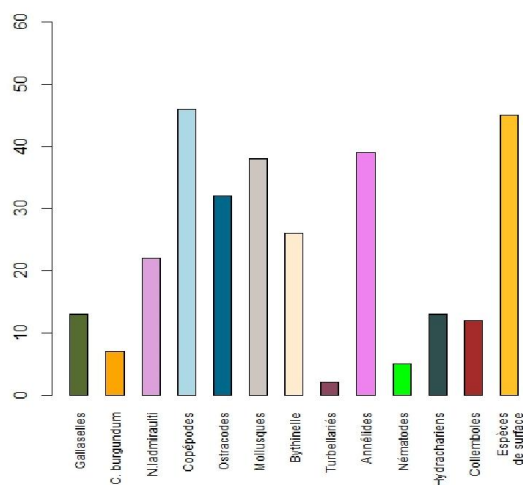
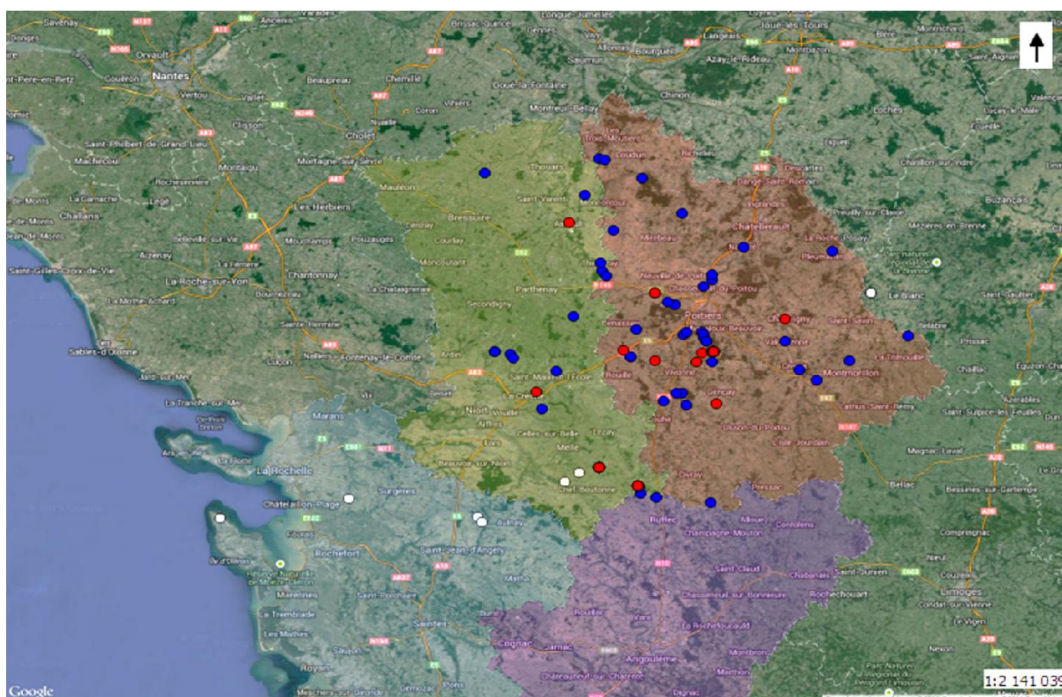


Figure 11: Nombre de sites contenant chaque espèce

Tableau III : Récapitulatifs de la faune stygobie en Vienne et Deux-Sèvres

Taxons/Espèces Identifiés			Nombre de sites	Nombre d'espèces
Crustacés	Isopodes	<i>Gallasellus heilyi</i>	13	5
		<i>Caecosphaeroma burgundum</i>	7	1
	Amphipodes	<i>Niphargus ladmiraulti</i>	22	1
	Ostracodes		32	≥2
	Copépodes		46	≥3
Mollusques		<i>Bythinella sp.</i>	26	≥2
		Autres	38	≥5
Annélides			39	≥3
Nématodes			5	≥2
Turbellariés			2	≥2
Hydracariens			13	≥4
Collembolés			12	≥2

Concernant, les espèces typiques du Poitou-Charentes, on retrouve des bythinelles sur 26 sites, *Niphargus ladmiraulti* sur 22 sites, *Caecosphaeroma burgundum* sur 7 sites, et des Gallaselles sur 12 sites dont le site historique de la rivière souterraine de Bataillé. Un site est également à rajouter (fontaine d'Andillé aux Roches-Prémarie-Andillé (86). Ce dernier a été trouvé dans le cadre de l'étude mais le site n'a pas fait l'objet d'une prospection de toute la faune stygobie (il ne sera donc pas pris en compte dans les futures analyses). Une cartographie de la répartition des Gallaselles et de l'ensemble des points prospectés a été réalisée sous logiciel SIG (QGIS 2.2.0 Valmiera) (figure 12). Le début d'étude a permis de compléter la répartition de la Gallaselle en Vienne et Deux-Sèvres. Il a été mis en évidence 9 sites (dont 2 avant le 17 février 2014) en Vienne et 3 sites (dont 1 avant le 17 février 2014) en Deux-Sèvres. La fréquence de capture est de 19.6%. Cette fréquence est plus faible que celle de 50% rapportée par Douady et Malard lors de la période 2008-2009 (*in* Lefebvre et *al*, 2013). L'inexpérience du début d'étude et la nécessité d'avoir des sites proches du laboratoire de Poitiers peuvent expliquer la différence de succès dans la recherche de Gallaselles. L'ensemble des découvertes de la Gallaselle est répertorié dans le tableau IV.



Légende

Département

- Vienne
- Deux-Sèvres
- Charente-Maritime
- Charente

Sites prospectés et présence de la Gallaselle

- Absence de la Gallaselle
- Présence de la Gallaselle
- Sites à Gallaselles connus avant l'étude

Figure 12 : Répartition des prospections et de la Gallaselle en Poitou-Charentes

Tableau IV : Mis à jour du tableau d'observation de la Gallaselle en Poitou-Charentes

N° site	Nom	Dpt	Commune	Date Obs. Gallaselle	Source/Ref/Informateur
1	Rivière souterraine de Bataillé	79	Gourmay-Loizé	10/07/1955	Legrand, 1956, <i>Notes Biospéol.</i> , 11 : 43-51
2	Fontaines de Somp	79	Somp	?/06/1970	Henry & Magniez, 1977, <i>Bull. Soc. Zool. Fr.</i> , 102 : 215-222
3	Puits de Saint-Denis-d'Oléron	17	Saint-Denis-d'Oléron	?/08/1992	in Magniez & Henry, 2001, <i>Mém. Biospéol.</i> , 28 : 143-147
2	Fontaines de Somp	79	Somp	29/12/2008	Douady & Malard, comm. pers., 2012 (univ. Lyon, DEEP Project Data Base)
4	Fontaine au Roi	17	La Jarrie-Audouin	29/12/2008	Douady & Malard, comm. pers., 2012 (univ. Lyon, DEEP Project Data Base)
5	Source de la fontaine des Veuves	17	Saint-Pierre-de-l'Isle	29/12/2008	Douady & Malard, comm. pers., 2012 (univ. Lyon, DEEP Project Data Base)
6	Résurgence de Cul Froid	36	Mérigny	?/08/2009	Douady & Malard, comm. pers., 2012 (univ. Lyon, DEEP Project Data Base)
6	Résurgence de Cul Froid	36	Mérigny	23/12/2009	Douady & Malard, comm. pers., 2012 (univ. Lyon, DEEP Project Data Base)
7	Puits du Thou	17	Le Thou	28/12/2009	Douady & Malard, comm. pers., 2012 (univ. Lyon, DEEP Project Data Base)
8	Lavoir de la Fontaine	79	Luché-sur-Brioux	?/02/2013	J.-M. Amiot, comm. pers., 2013 (via Nicolas Cotrel et Michel Caillon)
9	Fontaine d'Andillé	86	Roches-Prémarie-Andillé	21/09/2012	C. Douady & F. Malard (univ. Lyon ; avec François Lefebvre et Michel Caillon)
10	Rivière souterraine de Curzay	86	Curzay-sur-Vonne	16/11/2013	Lefebvre (VN) & CSR-PC
11	Puits Sureau	79	Sauzé-Vaussais	04/03/2014	F. Lefebvre & Delangle (VN)
12	Fontaine des aquariums	86	Roches-Prémarie-Andillé	12/03/2014	F. Lefebvre, M. Delangle, Pratt (VN)
13	Source Font-Mart	86	Aslonnes	12/03/2014	F. Lefebvre & M. Delangle (VN)
14	Rivière souterraine du Gabouret	86	Cloué	15/03/2014	Spéleo-Club Poitevin (CRS PC)
15	Puits de la Soule	86	Vouillé	19/03/2014	F. Lefebvre & M. Delangle (VN)
16	Rivière souterraine des Basses Plantes	86	Chauvigny	11/04/14	Spéleo-Club Poitevin (CRS PC)
17	Source de Puy-Rabier	86	Magné	14/04/2014	J.-P. Stéfano (CNPS), F. Lefebvre, M. Delangle, M. Caillon (VNPCN) & F. Alamiel (SCP)
18	Fontaine du Clos des Roches	86	Roches-Prémarie-Andillé	01/07/2014	F. Lefebvre & M. Delangle (VNPCN)
19	Lavoir de Fontcreuse	79	Sainte-Néomaye	16/07/2014	F. Lefebvre & M. Delangle (VNPCN)
20	Fontaine souterraine d'Airvault	79	Airvault	11/08/2014	M. Delangle, F. Lefebvre (VNPCN) & M. Bonnessée (DSNE)

En conclusion, l'étude globale sur la faune stygobie a confirmé la présence prédominante des crustacés dans les habitats souterrains. Il faut tout de même signaler qu'une confirmation de la classification et une détermination jusqu'à l'espèce doit être faite pour améliorer les analyses. En ce qui concerne la Gallaselle, 12 nouveaux sites ont été mis en évidence.

Le nombre de sites de Gallaselles s'élèvent maintenant à 20 et la zone de répartition s'est étendue vers le nord de la région. La poursuite de l'étude sur le reste du Poitou-Charentes augmentera d'autant plus la distribution de la Gallaselle en Poitou-Charentes et permettra d'augmenter la zone de recherche sur des sols et des bassins différents.

Partie II - Écologie des populations de Gallaselles

Cette partie cherche à déterminer les préférences écologiques des Gallaselles au niveau de l'habitat et des espèces associées. À noter que, du fait d'un effort d'échantillonnage non constant entre les sites prospectés, les analyses se feront sur des données d'absence/présence des taxons et non en fonction des abondances. Cela a pour objectif de ne pas biaiser les résultats.

1. Analyses descriptives

1.1 Étude du préférendum d'habitat par Analyse en Composante Principale (ACP)

1.1.1 Objectif et principe de l'ACP

Afin d'étudier le préférendum d'habitat de la Gallaselle, une Analyse en Composante Principale (ACP) qui est une analyse descriptive est effectuée grâce au *package ade4* du logiciel R (fonction *dudi.pca*). Cette analyse a pour but de montrer si les données physico-chimiques sont à relier avec la présence de la Gallaselle. L'ACP travaille sur des données qualitatives. Pour relier la présence des Gallaselles à la physico-chimie de l'eau, l'absence ou la présence de ce taxon est transformée en facteur. Les données sur la température, le pH, les estimations de la concentration en ammonium, en nitrite et sulfate ne sont pas prises en compte du fait que ces données varient peu entre les sites. Dans un premier temps, un cercle de corrélation est tracé (fonction *s.corcircle*) afin d'interpréter les axes des analyses suivantes. Par la suite, une distribution des sites en fonction des différentes données et de la présence ou non de la Gallaselle est réalisée (fonction *s.class*).

1.1.2 Résultats

Le cercle de corrélation (figure 13) montre que les données sur la conductivité, la turbidité, la concentration en CaCO_3 sont corrélées et portent le plus d'informations sur l'axe 1. L'axe 2 est porté par la quantité d'oxygène.

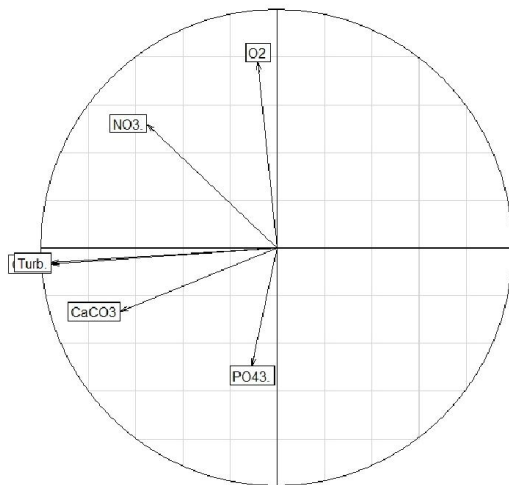


Figure 13 : Cercle des corrélations de l'ACP

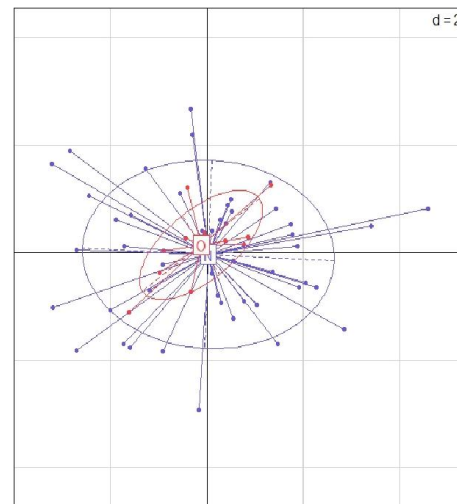


Figure 14 : Distribution des sites selon la présence ou l'absence de la Gallaselle et des données physico-chimiques. O : présence de la Gallaselle ; N : Absence de la Gallaselle

L'analyse de la distribution par site avec l'indication de la présence ou non de la Gallaselle (figure 14) montre que les sites avec Gallaselles ou sans Gallaselle se recoupent.

1.1.3 Discussion

Selon l'ACP, la présence de la Gallaselle ne semble donc pas être corrélée aux données physico-chimiques étudiées. Une seconde analyse descriptive est effectuée en catégorisant les données physico-chimiques suivant le degré de concentration (nul, faible, moyen, fort, très fort) de 4 paramètres (oxygène, phosphate, nitrate, carbonate).

2.2 Étude des associations d'espèces par Analyse en Composantes Multiples

2.2.1 Objectif et principe de l'ACM

L'Analyse en Composantes Multiples a ici pour but d'étudier la distribution des espèces les unes par rapport aux autres mais aussi par rapport à 4 données physico-chimiques et au substrat grâce au package *ade4* du logiciel R. Cette analyse est également descriptive et est basée sur des données qualitatives (fonction *dudi.acm*). Un ensemble de distribution par taxon est tracé et leur comparaison permet de conclure sur la proximité de répartition de chaque taxon (fonction *scatter*).

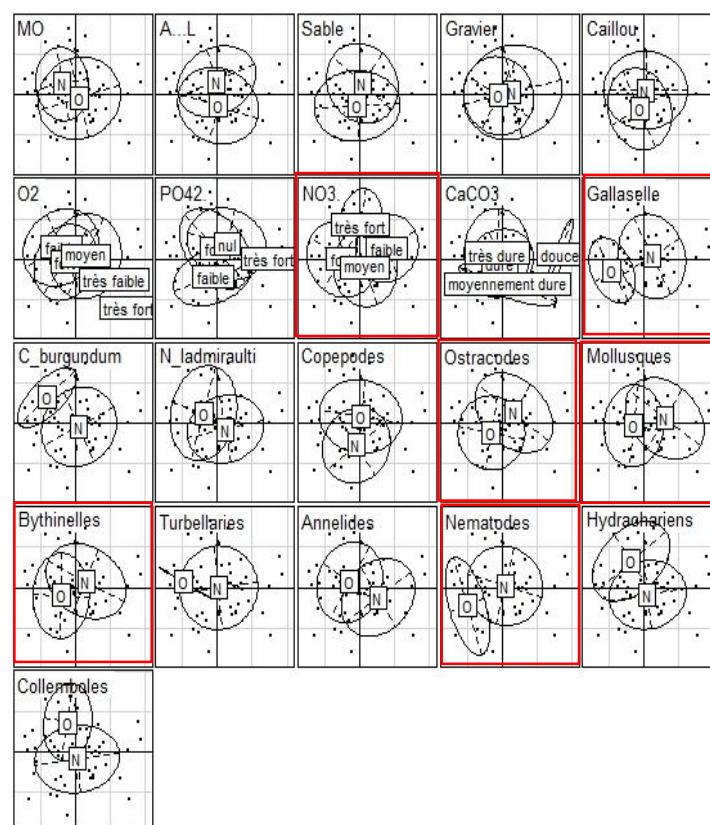


Figure 15 : Distribution des espèces selon l'ACM

2.2.2. Résultats

À propos des données physico-chimiques, cette analyse par données qualitatives montrerait seulement une corrélation entre la présence de la Gallaselle et la concentration forte ($50 < c < 75$) en Nitrate (figure 15). Cependant quand ce paramètre est « très fort » (≥ 75), les Gallaselles sont absentes.

La présence de la Gallaselle ne semble pas être liée au substrat trouvé sur les sites.

Concernant la répartition selon les espèces, la présence de la Gallaselle semblerait se rapprocher de celle Nématodes, des Ostracodes, des Mollusques dont les bythinelles (figure 15). Les corrélations sont néanmoins faibles.

2.3 Discussion

L'interprétation de ces deux analyses montre que la Gallaselle n'est pas distribuée en fonction de la physico-chimie de l'eau. Seule la concentration en nitrates semble ne pas avoir d'influence sur la présence de la Gallaselle qui ne serait donc peu sensible à ce paramètre.

2. Approche par tests statistiques sur les données physico-chimiques

Pour finir, une analyse de moyenne des paramètres physico-chimiques des sites où la Gallaselle a été trouvée est comparée à celle des sites où la Gallaselle est absente (tableau V). Les données sont comparées par test de Mann-Whitney (données non paramétriques vérifiées par les tests de Shapiro-Wilk et de Bartlett) par la commande *wilcox.test*. Les fortes concentrations en phosphate sont remarquables sur tous les types de site. Cette constatation avait aussi été faite lors d'une précédente étude sur les sources de la Vienne effectuée par Vienne Nature. Ce qui ressort aussi de ce tableau est l'importante moyenne de la concentration en nitrate pour les sites où la Gallaselle est présente. La différence avec les sites où il n'y a pas de Gallaselle est significative.

Tableau V : Comparaison des données physico-chimiques entre site à Gallaselles ou sans

	Moyenne sites présence de la Gallaselle	Moyenne sites absence de la Gallaselle	Test	W	p-value	Différence significative
Température (°C)	12,98±1,26	13,24±1,42	Mann-Withney	265,5	0,9466	Pas de différence
pH	7,2±0,16	7,2±0,45	Mann-Withney	305,5	0,4925	Pas de différence
Conductivité (mS/cm)	0,66±0,1	0,67±0,21	Mann-Withney	256,5	0,8111	Pas de différence
Turbidité (ppm)	473,63±71,33	481,41±155,4	Mann-Withney	253	0,7598	Pas de différence
Oxygène	6,26±1,39	6,60±1,91	Mann-Withney	293,5	0,6533	Pas de différence
Phosphate (mg/L)	1,6±0,81	1,9±1,4	Mann-Withney	306,5	0,4552	Pas de différence
Nitrate (mg/L)	46,59±5,84	37,8±20,32	Mann-Withney	156	0,02568	Différence
Carbonate (mg/L)	227,3±61,1	203,5±72,8	Mann-Withney	251,2	0,7312	Pas de différence
Sulfate (mg/L)	<200	<200				Pas de différence
Ammonium (mg/L)	0	0				Pas de différence
Nitrite (mg/L)	0	0				Pas de différence

3. Conclusion

Les analyses descriptives et statistiques montrent que seul le nitrate ressort comme étant un paramètre non rédhibitoire à la présence de la Gallaselle. Le fait que la Gallaselle soit peu sensible à la présence de nitrate est retrouvé chez une autre espèce de crustacé : l'Écrevisse à pattes blanches (*Austropotamobius pallipes*) qui est une espèce aux tolérances écologiques faibles (Trouilhé, 2006). La présence nitrate peut être reliée à la situation géographique des sites à Gallaselles. Beaucoup de sites se trouvent en aval de milieux agricoles ou jardins exploités. Les intrants potentiellement utilisés sur ces sites peuvent expliquer la présence forte de nitrate.

Cette étude ne peut prouver que la répartition de la Gallaselle n'est pas reliée aux autres paramètres physico-chimiques de l'eau. En effet, la variabilité au niveau de ces données est faible entre site. Il faudrait donc faire varier à l'avenir les paramètres physico-chimiques.

Partie III – Biologie des populations de Gallaselles

1. Données acquises sur la Gallaselle

1.1 Informations sur les différentes espèces

Des spécimens de chaque site (excepté ceux de trois sites en Deux-Sèvres ; lavoir de Fontcreuse à Sainte-Néomaye (79), fontaine souterraine d’Airvault (86) et Gouffre des Basses Plantes à Chauvigny (86)) ont été étudiés morphologiquement par Florian Malard du laboratoire LEHNA de l’université de Lyon. À partir de l’étude des organes copulateurs mâles (pléopode II), il a pu découvrir des différences entre individus et notamment avec ceux de l’espèce type décrite initialement par Legrand (*Gallasellus heilyi*) à partir de spécimens collectés à Bataillé (Gournay-Loizé, 79). Selon lui, 4 morphotypes différents (en plus de *Gallasellus heilyi* de Bataillé) existent nommées pour le moment A, B, C et D (Tableau VI). Ainsi, il est maintenant prouvé même morphologiquement qu’au sein du genre *Gallasellus*, il y a plusieurs espèces. Ceci confirme ce qui avait été montré moléculairement lors des premières analyses effectués avant cette étude. Ces analyses moléculaires (séquençage des gènes 16S, 18S et COI) sur les individus prélevés lors de cette étude sont en cours (Christophe Douady, laboratoire LEHNA de l’université de Lyon). Concernant la distribution des espèces, il n’y a pas de séparation géographique par espèce. Par exemple, on retrouve le morphotype « A » en Deux-Sèvres et en Vienne. D’ailleurs, cette espèce a été la plus trouvée. Au contraire les 3 autres morphotypes n’ont été trouvés que sur une seule station.

Tableau VI: Identification des espèces de Gallaselle par site

Dpt	Commune	Localité	Identification F. Malard
79	Sauzé-Vaussais	Puits Sureau	<i>Gallasellus</i> sp. A
86	Curzay-sur-Vonne	Grotte du Château de Curzay	<i>Gallasellus</i> sp. A
86	Roches-Prémarie-Andillé	Fontaine des aquariums	<i>Gallasellus</i> sp. A
86	Roches-Prémarie-Andillé	Fontaine du Clos des Roches	<i>Gallasellus</i> sp. B
86	Aslonnes	Source de Font-Mart	<i>Gallasellus</i> sp. C
86	Vouillé	Puits de la Soule	<i>Gallasellus</i> sp. A
86	Magné	Source de Puy Rabier	<i>Gallasellus</i> sp. D (*)
86	Cloué	Grotte de Gabouret	<i>Gallasellus</i> sp. Indéterminée (**)

* Nouvelles espèces rencontrées

** Manque de matériels biologiques pour identification

1.2 Informations acquises sur la Gallaselle grâce à l'élevage

L'élevage a permis de pouvoir observer la Gallaselle et a permis d'avoir les premières photos (individus adultes, œufs et jeunes à l'éclosion) (figure 1, 2 et 3 de l'annexe 5). Lors de la manipulation des individus, il a été constaté que les Gallaselles pratiquent une sorte de catalepsie (elles font « les mortes ») (figure 4 de l'annexe 5). Concernant, la mue il a été observé qu'elle se faisait en deux temps (figure 5 et 6 de l'annexe 5).

2. Présentation des sites ressources

Pour la suite de cette étude, 4 sites principaux aux abondances les plus importantes en Gallaselles sont utilisés pour les analyses et les expériences (tableau VII).

Tableau VII : Présentation des sites ressources en Gallaselles

Sites	Puits Sureau (figure 16 et 17)	Puits de la Soule (figure 18 et 19)	Fontaine des Aquariums (figure 20 et 21)	Fontaine du Clos des Roches (figure 22 et 23)
Commune	Sauzé-Vaussais (79)	Vouillé (86)	Roches-Prémarie-Andillé (86)	Roches-Prémarie-Andillé (86)
Grand bassin versant	La Charente	La Loire	La Loire	La Loire
Roches affleurant	Jurassique moyen (Bathonien)	Jurassique moyen (Bathonien)	Jurassique moyen (Aalénien)	Jurassique moyen (Aalénien)
Aquifère	Karstique du Dogger	Karstique du Dogger	Karstique du Dogger	Karstique du Dogger
Profondeur (mètre)	8	3,5	0,9	0,6
Méthode de collecte	Filet Cvetkov	Filet Cvetkov	À vue/Filtrage substrat	À vue/Filtrage substrat



Figure 16 : Puits
Sureau

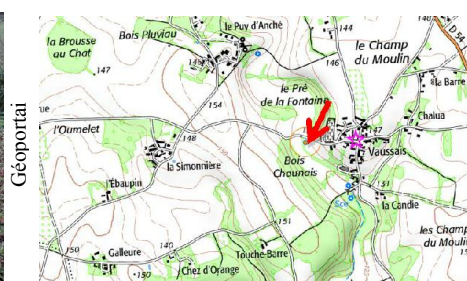


Figure 17 : Localisation IGN –
Échelle 1/13.542



Figure 18 : Puits de la Soule
– Vouillé (86)

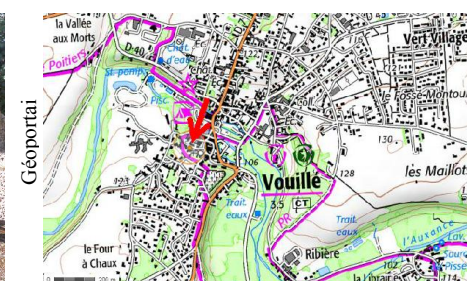


Figure 19 : Localisation IGN –
Échelle 1/13.542



Figure 20 : Fontaine des aquariums Les Roches-Prémarie-Andillé

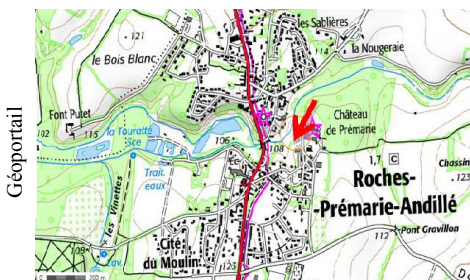


Figure 21 : Localisation IGN – Échelle 1/13.542



Figure 22 : Fontaine du Clos des Roches Roches-Prémarie-Andillé(86)

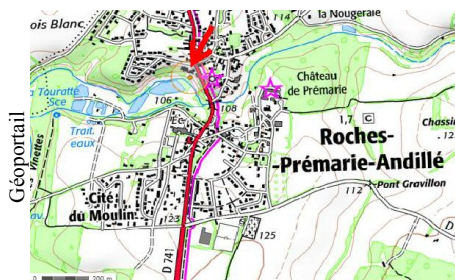


Figure 23: Localisation IGN – Échelle 1/13.542

2. Étude de la dynamique des populations

2.1 Présentation de la méthode de De Lury

Plusieurs méthodes existent pour estimer l'abondance d'une population. La méthode de De Lury permet d'estimer une population sans qu'il y ait besoin de marquer et remettre les individus dans leur milieu. Cette méthode est donc adaptée au cas des collectes de Gallaselles effectuées dans le cadre de l'étude. Plusieurs conditions doivent être vérifiées : effort de capture équivalent, absence de déplacement des individus en dehors du secteur de capture, $c_1 > c_2$ et $c_1^2 (c_1 - c_2)^2$ et $c_2^2 (c_1 + c_2) > 16$ (c_1 : 1^{ère} capture, c_2 : 2^{ème} capture) (Laurent et Larmarque, 1975).

2.2 Vérification des conditions pour les différents sites

L'ensemble des effectifs de quatre sites (Puits Sureau, Puits de la Soule, Fontaine du Clos des Roches, Fontaines des aquariums) en fonction des différentes prospections est répertorié dans le tableau VIII.

Tableau VIII– Nombre d’individus capturés par prospection et par site et estimation des populations

Site	Puits Sureau (79)	Puits de la Soule (86)	Fontaine des aquariums (86)	Fontaine du Clos des Roches (86)
Prospection 1	3	6	12	21
Prospection 2	9	4	15	15
Prospection 3	25		8	7
Prospection 4	4		1	
Prospection 5			6	
Prospection 6			21	
Prospection 7			21	
Total	41	10	84	43
Estimation	≥ 41	≥ 10	≥ 84	79 ± 7

Au vue des conditions, seule la population de la fontaine du Clos des Roches est estimable par cette méthode ($c_1 > c_2 > c_3$). Concernant le site de puits Sureau, la méthode n’est pas applicable du fait que pour un effort d’échantillonnage équivalent (valeur divisée par le nombre de fois que le filet Cvetkov ait été plongé), $c_1 < c_2 < c_3$. Les prospections à la fontaine des aquariums n’ont pas été effectuées, dans ce cas, avec les mêmes efforts d’échantillonnages, ni les mêmes méthodes de capture, la méthode de De Lury ne peut donc être utilisée. Enfin, la population du puits de la Soule n’est pas estimable du fait que seulement deux conditions sont vérifiées. L’effort de capture est conservé si l’on applique la même méthode que pour puits Sureau (division des effectifs par le nombre de filet Cvetkov pratiqué). Le calcul se baserait sur 2 pêches. La condition $c_1^2 (c_1 - c_2)^2$ et $c_2^2 (c_1 + c_2) > 16$ n’est pas vérifiée. Le premier facteur est égal à 6.25 et le deuxième à 1.55.

2.3 Estimation de la population de la Fontaine du Clos des Roches

La population est estimée grâce à une régression linéaire des captures réalisées à la i-ème prospection en fonction des captures cumulées (figure 24). L’équation de la courbe de tendance permet de calculer l’estimation (P) de la population : $P = 21.539 / 0.2736 = 78.72$.

L’intervalle de confiance peut être calculé grâce à la formule suivante :

$$P \pm 1,96 \times \sqrt{\frac{c_1^2 c_2^2 \times (c_1 + c_2)}{(c_1 - c_2)^4}}$$

La population de la Fontaine du Clos des Roches serait donc composée de 79 ± 7 Gallaselles.

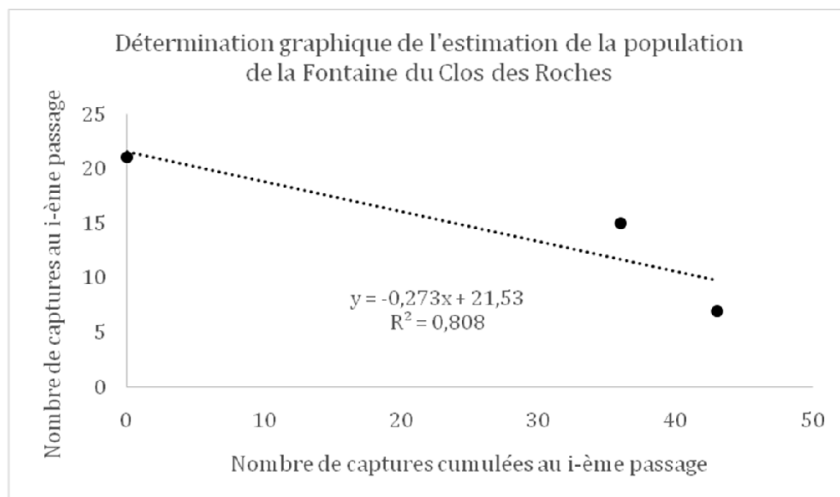


Figure 24 : Détermination graphique de l'estimation de la population de la Fontaine du Clos des Roches

Concernant les autres populations, il peut être seulement affirmé que le nombre d'individus les composant est supérieur ou égal au nombre total de captures effectuées (tableau VIII). La méthode reste difficilement applicable à nos collectes.

3. Étude biométrique

3.1 Mesures effectuées

Les mesures sont faites sur photographies prises sous loupe trinoculaire munie d'une caméra (AXIOCAM). Elles sont traitées par le logiciel AXIOVISION LE. Une mesure de la longueur du corps allant du céphalon au telson est effectuée pour chaque individu (figure 25).

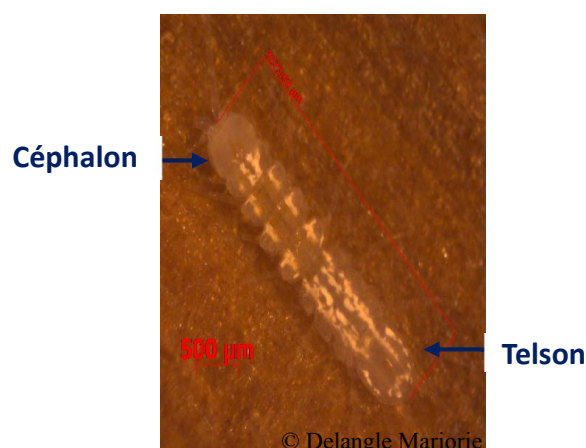


Figure 25 : Mesure de la longueur

3.2 Analyses

Après une analyse générale sur la taille des Gallaselles, une comparaison par sexe est effectuée. Après vérification de la normalité (test de *Shapiro-Wilk*) et de l'homoscédasticité (test de *Bartlett*) un test de Student est réalisé. Ce test permet de comparer la moyenne d'une donnée (ici la longueur) à deux groupes (ici mâle et femelle)

3.3 Résultats

Le graphique de la figure 26 représente le nombre d'individus par classe de taille. On peut voir que la majorité des individus mesurés ($n=17$) se situe dans la catégorie 3.5-4mm. Les femelles ont une taille comprise entre 3.1 et 5.7mm. Concernant les mâles, la taille minimale est de 2.2 mm et n'excède pas 4.2 mm. Les femelles ont donc une taille supérieure à celle des mâles, et la différence est statistiquement significative ($t = 3.27$, $df = 12.764$, $p\text{-value} = 0.006$).

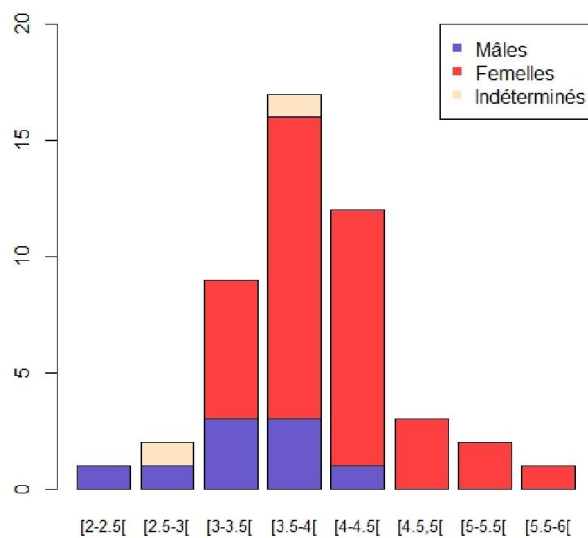


Figure 26 : Répartition des individus selon la classe de taille

3.4 Discussion

Les Gallaselles des populations étudiées ont donc une taille moyenne comprise entre 3.5 et 4 mm. Ces analyses de taille d'individus révèlent un dimorphisme sexuel en faveur des femelles.

4. Détermination du sex-ratio

4.1 Dimorphisme sexuel

La détermination mâle-femelle se fait grâce aux différences au niveau des pléopodes (pléopode I et II) (figure 27). Les mâles possèdent un pléopode I nommé stylet. Le pléopode II mâle est dit différencié (présence d'un endopodite et d'un exopodite). Le sympodite est plus court que l'exopodite. Ce dernier constitue l'organe copulateur et contient une apophyse subquadrangulaire. Chez les femelles le pléopode II est non différencié et de forme triangulaire. Les bords internes sont rectilignes alors que les bords externes sont bombés (Legrand, 1956).

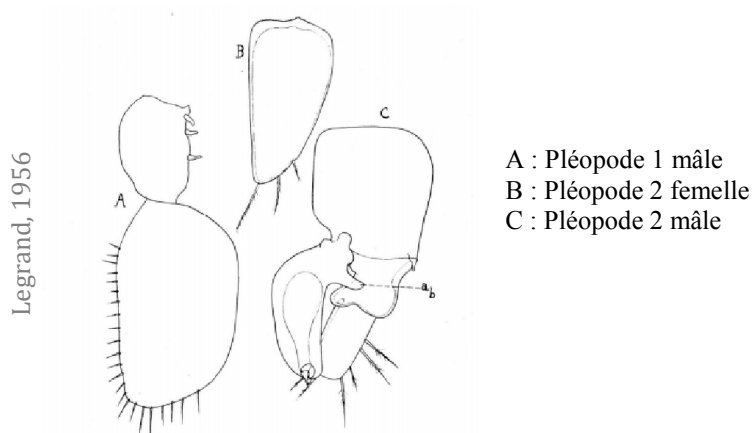


Figure 27 : Pléopodes mâles et femelles des Gallaselles

Afin de déterminer si le sex-ratio est biaisé en faveur des mâles ou des femelles, un test de khi-deux est effectué. Le sex-ratio est d'abord calculé sur les populations de 3 sites ressources (puits Sureau, fontaine du Clos des Roches et fontaine des aquariums). La population du puits de la Soule ne pouvant pas être utilisée du fait d'un manque de matériels biologiques en état de détermination. Dans un second temps, toutes les Gallaselles trouvées (y compris sur les sites non qualifiés de « sites ressources ») ont servis pour calculer un sex-ratio global.

4.2 Résultats

La figure 28 montre un sex-ratio de 2 femelles pour un mâle pour la population de puits Sureau, de 8 femelles pour 1 mâle pour la population de la fontaine du Clos des Roches de 1.7 femelles pour 1 mâle pour la population de la fontaine des Aquariums. La différence entre le nombre de mâles et de femelles n'est pas significative pour les populations de la fontaine des Aquariums et du puits Sureau (puits Sureau : $X^2 = 2.95$, $df = 1$, $p\text{-value} = 0.086$; fontaine des Aquariums : $X^2 = 2.33$, $df = 1$, $p\text{-value} = 0.127$).

En revanche, concernant la population de la fontaine du Clos des Roches, la différence est significative ($X^2 = 10.890$, $df = 1$, $p\text{-value} = 0.001$). Concernant le regroupement de toutes les populations, le nombre de femelles collectées est significativement plus grand que le nombre de mâles ($X^2 = 10.227$, $df = 1$, $p\text{-value} = 0.0014$). Il y a 1.9 femelles pour 1 mâle.

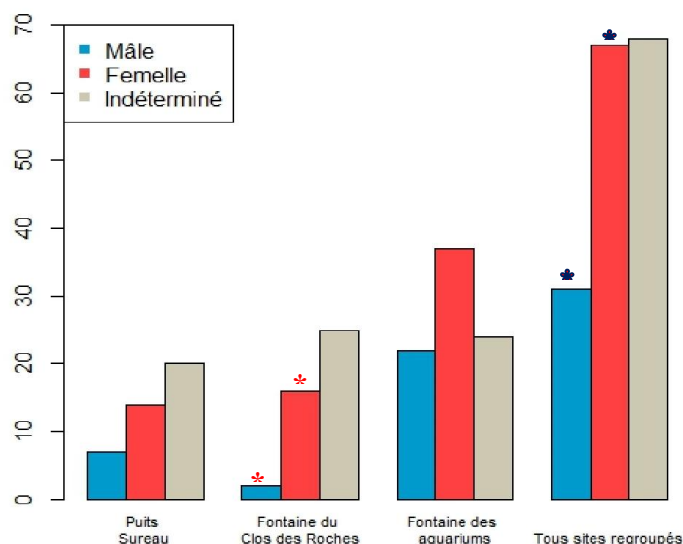


Figure 28 : Distribution des individus selon le sexe par site

4.3 Discussion

Le sex-ratio semble donc être biaisé en faveur des femelles. Cependant, ce n'est pas le cas pour toutes les populations. Ces résultats vont dans le sens des observations faites par Legrand (1956) à Bataillé, il avait collecté 5 femelles pour 2 mâles.

5. Test de la présence de *Wolbachia*

La bactérie *Wolbachia* est trouvée dans les tissus reproducteurs d'arthropodes. Cette bactérie manipule la reproduction de son hôte par divers effets. Elle provoque une incompatibilité cytoplasmique qui se traduit par une non-viabilité partielle ou totale des descendants d'un croisement entre un mâle infecté et une femelle non infecté. De plus, *Wolbachia* induit la parthénogénèse et la féminisation des mâles génétiques (Rousset *et al.*, 1992 in Werren, 1997). Cette bactérie a été retrouvée chez des insectes (Werren *et al.*, 1995 in Werren, 1997), des mites (Johanowicz *et al.*, 1995 in Werren, 1997), des nématodes (Sironi *et al.*, 1997 in Werren, 1997) ainsi que chez des isopodes (Bouchon *et al.* 1998, Cordaux *et al.*, 2012).

Le sex-ratio des populations de Gallaselles prélevées lors des différentes prospections semblent en partie biaisé en faveur des femelle, c'est pourquoi une vérification de la présence de *Wolbachia* chez la Gallaselle a été effectuée. Des individus des Roches-Prémairie-Andillé ont été utilisés, 13 Gallaselles de la fontaine des aquariums (10 femelles, 2 mâles, 1 indéterminée) et 2 femelles de la fontaine du Clos des Roches.

5.1 Principe

Le test de présence de la bactérie *Wolbachia* chez un individu est basé sur une PCR. La PCR a pour but d'amplifier un gène cible. Dans ce cas, le gène ciblé est le gène qui code pour la protéine Wsp (*Wolbachia surface protéine*). Le gène ciblé Wsp a une taille d'environ 600 pb.

Différentes étapes sont nécessaires pour réaliser cette méthode. Tout d'abord, une extraction d'ADN est effectuée, suivie de la PCR en elle-même dont les résultats sont révélés par une électrophorèse sur gel d'agarose. Le protocole est détaillé en annexe 5.

5.2 Résultats

Sur la figure 29 montrant la photographie du gel d'électrophorèse, la colonne du témoin positif (21) présente une bande aux alentours de 600 pb. La PCR a donc bien fonctionné. Concernant les autres individus, aucune bande n'est visible.

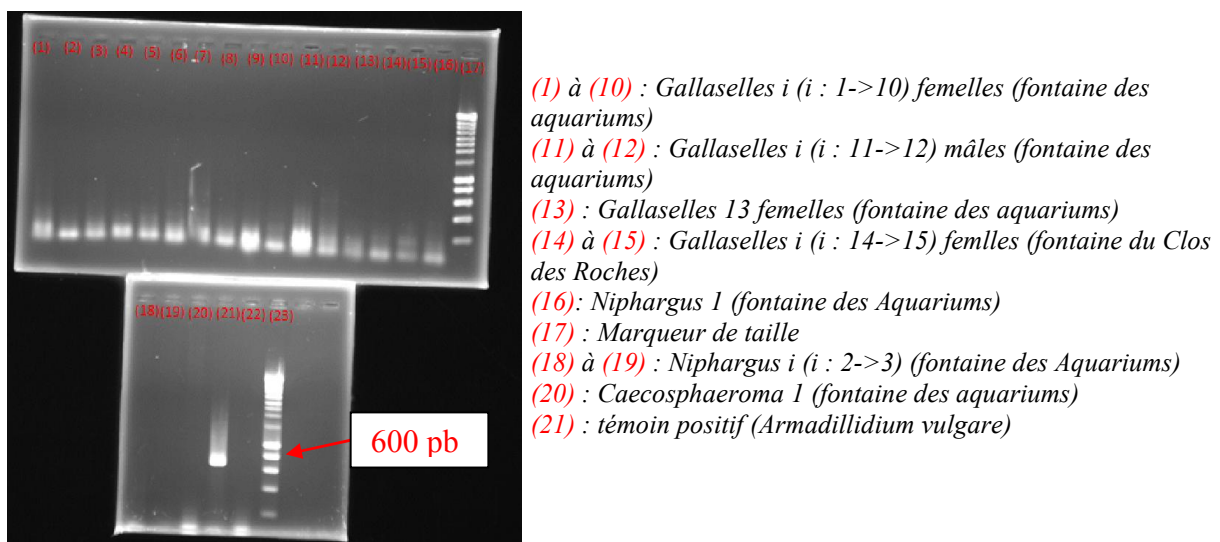


Figure 29 : Photographie de la révélation du gel d'électrophorèse

5.3 Discussion

La bactérie *Wolbachia* ne semble donc pas présente chez les Gallaselles des Roches-Prémarie-Andillé. Cependant, il se peut que d'autres populations soient touchées par cette bactérie. Il est donc nécessaire de vérifier l'absence de *Wolbachia* sur d'autres sites. De plus, une autre vérification sur les populations des Roches-Prémarie-Andillé sera faite avec d'autres primers que Wsp. Des tests préliminaires sur quelques *Niphargus ladmiraulti* et *Caecosphaeroma burgundum* ont été réalisés. Ils se sont aussi révélés négatifs.

Cette partie de l'étude a permis d'étudier un aspect de la biologie des Gallaselles (découverte de morphotypes, analyse de taille, sex-ratio biaisé en partie en faveur des femelles, absence de la bactérie *Wolbachia* sur 2 populations). Par la suite, le régime alimentaire est étudié.

Partie IV - Étude du régime alimentaire des Gallaselles

1. Pré-requis sur les connaissances sur le régime alimentaire

Afin de déterminer le rôle fonctionnel des Gallaselles dans leur écosystème, il est nécessaire de connaître son régime alimentaire. Avant cette étude, plusieurs hypothèses étaient émises. Lors de la description de l'espèce en 1956, Legrand suggère que la Gallaselle se nourrit des débris ligneux présents dans son milieu. Les différents élevages effectués par la suite aux laboratoires de Dijon et de Lyon appuient cette constatation. En effet, les individus ont été élevés dans des bacs dans lesquels se trouvent des feuilles mortes. Il a pu être observé que ces feuilles étaient grignotées. D'un autre côté, une étude basée sur des analyses isotopiques sur le régime alimentaire en cours sur des Proaselles stygobies (espèces proches des Gallaselles) a été réalisée au laboratoire de LEHNA de Lyon. Les Proaselles ont été nourries *ad libitum* par différentes sources alimentaires (matière organique fine et grossière, limon et biofilm¹¹) enrichies artificiellement en C¹³ et N¹⁵. Les résultats tendent à montrer une préférence des Proaselles pour les biofilms et les limons (L. Simon, article en cours d'écriture).

¹¹ Biofilm : couche gélatineuse de micro-organismes de types bactéries, champignons, algues, protozoaires) qui se développent à la surface du sédiment et de la matière organique. Les biofilms peuvent être constitués d'espèces identiques ou différentes. Les communautés vivent en symbiose.

Ainsi, cette partie de l'étude cherche à montrer quelle(s) ressource(s) les Gallaselles utilisent pour se nourrir. Les Gallaselles se nourrissent-elles des débris végétaux présents dans son milieu ou ingèrent-elles ces débris pour obtenir les biofilms s'y trouvant ?

2. Approche expérimentale en élevage

Afin de déterminer le régime alimentaire des Gallaselles, l'élevage sous différentes conditions nutritives est utilisé. Une mise au point au préalable du protocole a dû être faite. Trois protocoles ont été mis en place avant de garder le protocole définitif le plus adéquat en termes de survie.

La détermination du régime alimentaire (débris végétaux *vs* biofilm) est réalisée *via* deux conditions qui leur sont imposées. Dans un cas, les Gallaselles sont dans un milieu inspiré du milieu naturel et dans l'autre cas le milieu est aseptisé au maximum en supprimant le plus possible de biofilm.

2.2 Essais d'élevage

2.2.1 Protocole 1

Ce premier protocole constitue une phase test pour appréhender la survie des Gallaselles en élevage.

a. Matériels et Méthodes

Les Gallaselles proviennent de 3 sites et sont placées en élevage à 3 dates différentes (tableau IX).

Tableau IX : Gallaselles prélevées pour le protocole

Date	Sites	Nombre de Gallaselles
04/03/2014	Puits Sureau - Sauzé-Vaussais (79)	4
12/03/2014	Fontaine des aquariums - Roches-Prémarie - Andillé (86)	5
19/03/2014	Puits de la Soule - Vouillé (86)	2

Les Gallaselles sont élevées individuellement dans des boîtes type pilulier d'un diamètre et d'une hauteur de 4 cm. Elles sont perforées de deux fenêtres fermées par de la toile en nylon de maille de 200 μ m fixée par du silicone. Les individus ont chacun du substrat en quantité *ad libitum* dans leur pilulier. Les boîtes sont disposées dans un bac muni d'un bulleur pour assurer l'oxygénation et remplies d'eau provenant du milieu naturel d'où sont prélevées les animaux (figure 30). Les bacs sont placés dans des caissons isothermes réglés à 12°C et en obscurité constante.

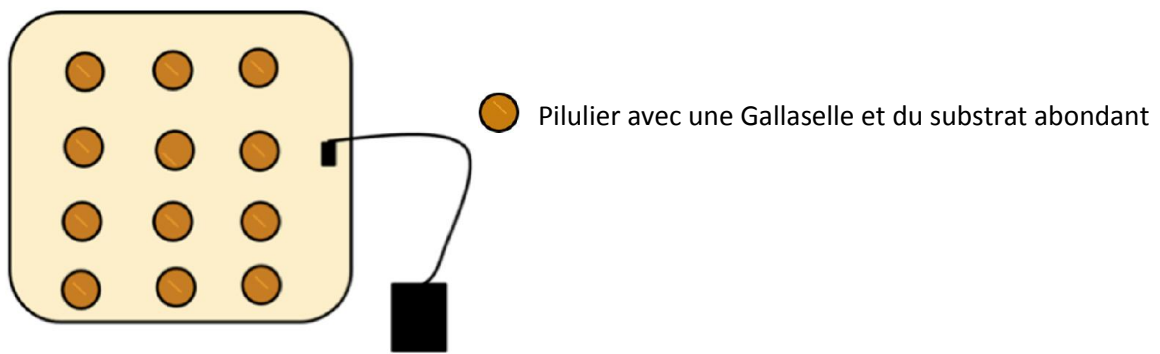


Figure 30 : Schéma du protocole 1

b. Résultats

Plusieurs causes de mortalité ont pu être constatées. Une première qui peut être mentionnée est la manipulation. Le graphique de la figure 31 montre 4 mortalités associées à des manipulations (mesures ou mise en élevage). Lors de ce protocole, la survie maximale a été de 21 jours (individus originaires du Puits Sureau). Tous les individus (sauf 1) sont morts à la même date, le 27 mars. Cette mortalité est associée à une eau devenue trouble.

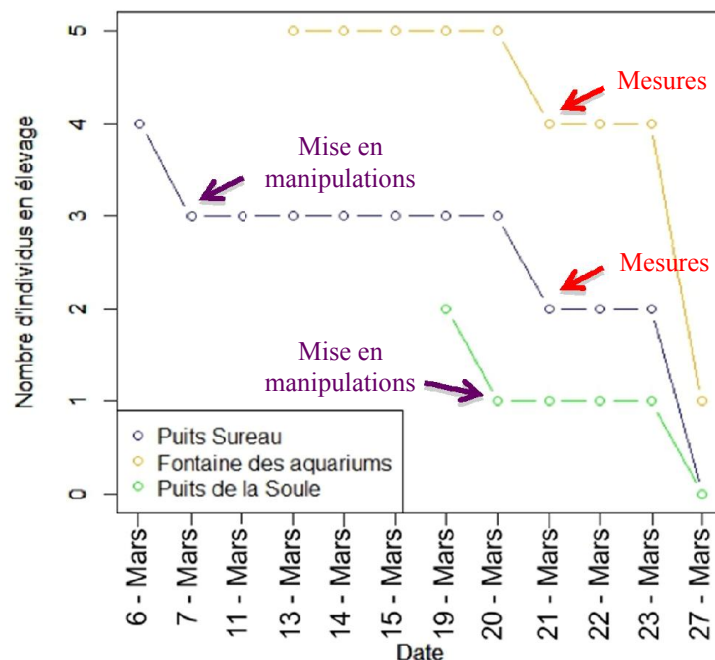


Figure 31 : Suivi de la mortalité lors du protocole 1

c. Discussion

Ce premier protocole paraissait dans un premier temps prometteur, cependant une forte mortalité s'est produite après 21 jours d'élevage. Cette mortalité est probablement due à un colmatage par accumulation de matières en suspension et/ou à une prolifération bactérienne. Ceci peut être confirmé par le fait que seul un individu a survécu et celui-ci était placé dans un pilulier vide de substrat. Les manipulations ont aussi provoqué de la mortalité, elles doivent donc être limitées au maximum. Plusieurs facteurs lors de la manipulation entrent en jeu. Tout d'abord, il y a la manipulation en elle-même qui fragilise les individus. De plus, la luminosité imposée sous loupe binoculaire aux Gallaselles peut être un facteur de stress et donc nocif à cette espèce stygobie.

2.2.2 Protocole 2

Ce deuxième protocole reprend les conditions du protocole 1 avec quelques améliorations. Un premier essai d'expérience (comparaison de deux conditions) a aussi été tenté. En plus de l'objectif initial, ce protocole avait pour objectif de comparer deux populations situées sur un bassin versant différent.

a. Matériels et Méthodes

Pour ce deuxième protocole, deux sites ont été utilisés, puits Sureau à Sauzé-Vaussais (filet Cvetkov) et fontaine des aquariums des Roches-Prémarie-Andillé (à vue) (tableau X).

Tableau X - Gallaselles prélevées pour le protocole 2

Date	Sites	Nombre de Gallaselles
15/04/2014	Fontaine des aquariums - Roches-Prémarie - Andillé (86)	15
16/04/2014	Puits Sureau - Sauzé-Vaussais (79)	4

Le même matériel que dans le premier protocole est utilisé (figure 32). Cependant, une étape de filtration de l'eau des sites est effectuée grâce à un filtre Nalgène muni d'un filtre de 0,2µm. Le but est de supprimer un maximum de matière en suspension et de microorganismes pour limiter la mortalité. Le deuxième changement est l'absence de substrat pour une mise à jeun temporaire. Ceci a pour but de mettre tous les individus dans les mêmes conditions avant le début des expériences.

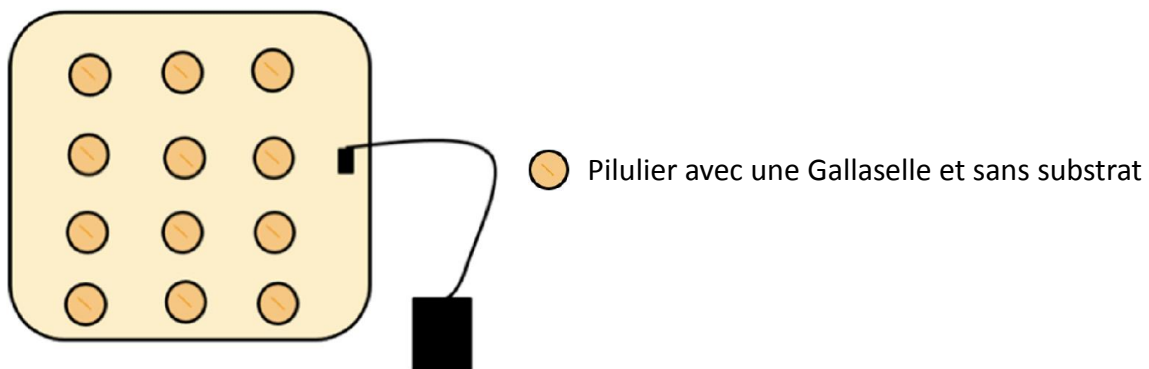


Figure 32 : Schéma du protocole 2

Avant la mise en place des expériences, les Gallaselles sont toutes mesurées, des mesures biométriques sont effectuées (sous loupe binoculaire munie d'une lentille graduée) et le volume est estimé (grâce à un capillaire).

b. Résultats

La survie maximale lors de ce deuxième protocole est de 7 jours avec seulement des individus issus de la fontaine des aquariums des Roches-Prémarie. Les mortalités se sont produites dès le début des expériences mais aussi après les manipulations de mesure (figure 33).

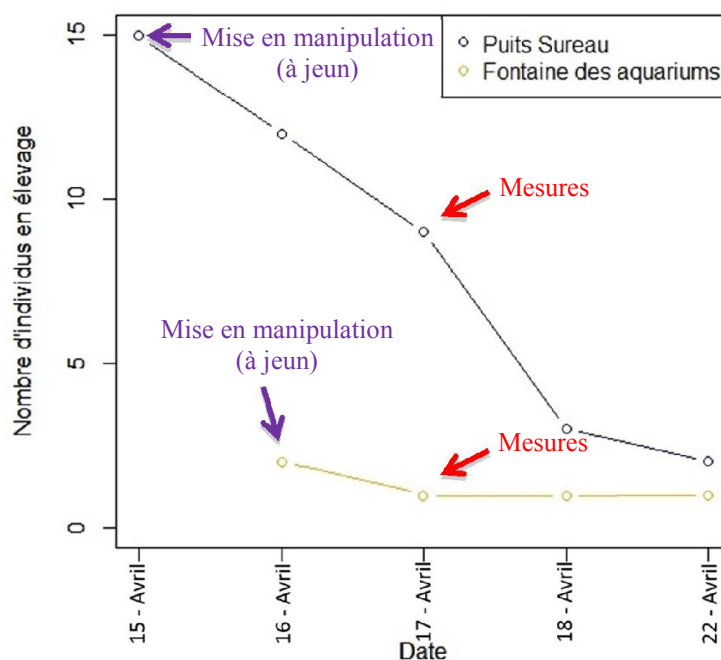


Figure 33: Suivi de la mortalité lors du protocole 2

c. Discussion

Du fait de l'absence de substrat et de la filtration de l'eau, les Gallaselles ont été privées de toute nourriture possible. Près de la moitié des individus n'ont pas survécu à cette privation.

Ce protocole confirme que la manipulation des Gallaselles est préjudiciable pour ces individus qui se révèlent extrêmement fragiles.

Un autre paramètre pouvant entrer en jeu dans la survie des Gallaselles est la condition d'isolement imposée par l'élevage individuel.

Pour toutes ces raisons acquises lors de ces protocoles tests, un changement important de mode d'élevage a été décidé pour éviter de nouvelles pertes importantes d'individus. Un élevage de Gallaselles a déjà été effectué au laboratoire de Lyon (LEHNA) de manière collective. Celui-ci n'a pas connu de forte mortalité, le protocole final s'est donc basé sur le principe de ceux des Lyonnais. Des adaptations au niveau de la manipulation sont aussi effectuées.

2.3 Expérimentation (Protocole 3)

2.3.1 Matériels et Méthodes

Lors de ce troisième protocole, les expériences proprement dites ont été menées. Deux bacs (22,5 cm X 22,5 cm X 8,5 cm) sont utilisés avec les deux conditions différentes (figure 34). Dans ces deux bacs, l'eau est passée à l'autoclave (118°C - 3 heures) et filtrée, une pierre jouant le rôle de support et passée à l'autoclave est déposée dans chaque bac. La différence se fait au niveau du substrat. Dans le premier bac, le bac témoin, le substrat est prélevé sur le site et placé directement dans le bac. Dans le second, le bac expérimental, le substrat est originaire du site naturel et il est passé à l'autoclave. L'autoclave a pour but de supprimer un maximum de biofilms. L'autoclave a été choisi à la place de la filtration du fait d'une meilleure efficacité et d'une plus grande rapidité. En effet, la température est plus adaptée pour éliminer des bactéries. Le substrat est composé dans les deux bacs, de 3 petits morceaux de feuille et de 2 petits morceaux de bambous.

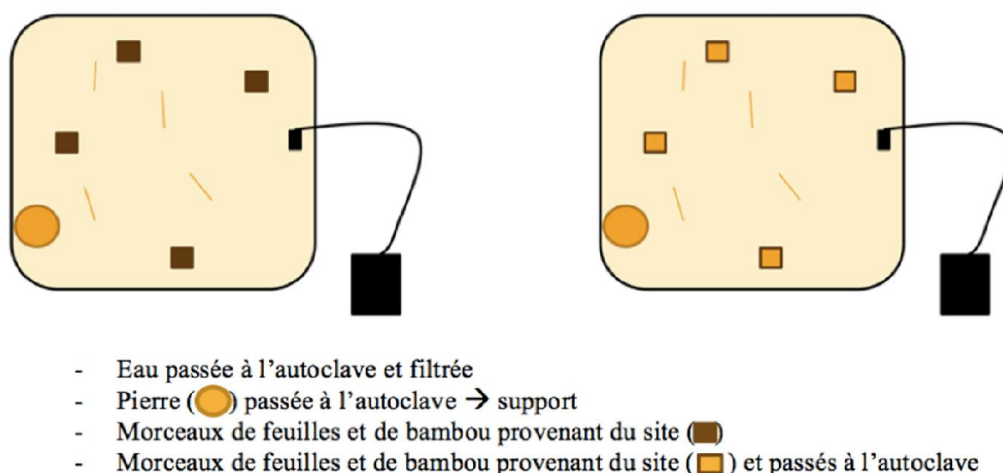


Figure 34 : Schéma protocole 3

Deux réplicats de l'expérience ont été effectués. En effet, le nombre d'individus par réplicat étant faible, la répétition de l'expérience rend plus robuste les résultats et les conclusions. Cependant, le deuxième ne peut être pris en compte du fait d'une mortalité trop importante dès le début de l'expérience dans les deux bacs.

Concernant le premier réplicat étudié, les individus sont tous originaires de la fontaine du Clos des Roches et ont été collectés le 13/05/2014.

a. Mesures préliminaires

Chaque individu est mesuré pour pouvoir constituer des groupes de taille équivalents. Ils sont mesurés grâce au logiciel AXIOVISION après prise de photographies. Deux mesures sont réalisées, la mesure de la longueur du corps et la mesure du céphalon. Les mesures par lentille graduée sous loupe binoculaire et les mesures de volume ont été abandonnées pour limiter au maximum les manipulations. Les groupes sont aussi élaborés de façon à ce que les individus soient homogènes quant à leur vivacité et leur état global.

b. Analyses statistiques

Pour tester la différence entre les deux bacs, un test de survie est réalisé. Le test est basé sur un estimateur de Kaplan-Meier qui permet de créer une fonction dite de survie. Une courbe de survie est alors construite à partir de la fonction. Pour tester la différence entre les deux courbes de survie un test issu du modèle de Cox est pratiqué. Ces analyses sont effectuées sous R grâce aux packages *Survival*, *Mass* et *KMsurv*.

2.3.2 Résultats

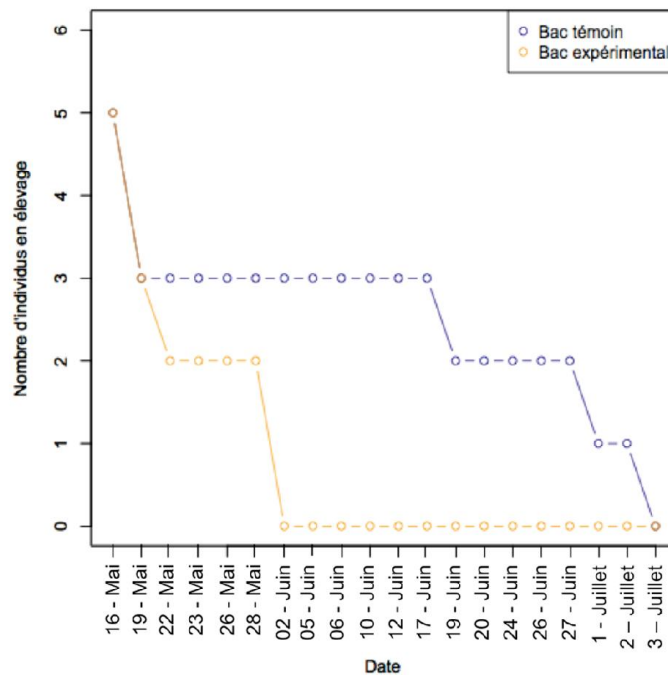


Figure 35 : Suivi de la mortalité lors du protocole 3 – Réplicat 1

Sur la figure 35 on peut distinguer deux phases séparées par le 12^{ème} jour (28 mai). Lors de la première phase, la mortalité entre les deux bacs est similaire. En revanche, lors de la deuxième phase, la mortalité est totale dans le bac expérimental, dès le 17^{ème} jour. Concernant le bac témoin, la mortalité est progressive, il n'y a plus aucun individu 48 jours après le début des expériences. Ces deux phases peuvent être différenciées par le fait que les biofilms du bac 1 sont plus développés dans la deuxième phase. Ils deviennent visibles à l'œil nu (figure 36).



Figure 36 : Biofilm visible sur substrat du bac témoin

Trois analyses de survie ont été effectuées. Tout d'abord, une analyse est faite sur l'ensemble de l'expérience.

Après un traitement par le modèle de Kaplan-Meier (annexe 6), le test effectué grâce au modèle de Cox montre que la différence de mortalité entre les deux bacs est significative ($p=0,025$).

En effectuant le même test sur la première phase de l'expérience, on constate que la différence n'est pas significative ($p=0,657$). La différence de survie est significative pour la deuxième phase ($p=0,005$).

2.3.3 Discussion

Les résultats du premier réplicat suggèrent une importance des biofilms. En effet, il y a une différence entre les conditions qui est d'autant plus marquée lorsque le biofilm est réellement développé (visible à l'œil nu). Cependant, ce résultat n'a pas pu être confirmé lors du deuxième réplicat. Lors de ce deuxième réplicat, les effectifs ont rapidement diminué. Ceci peut s'expliquer par le fait que les individus ont pu être fragilisés lors du prélèvement. Cette hypothèse est confortée par la grande mortalité constatée entre le prélèvement et la mise en élevage (52%), ce qui n'a pas été le cas lors du réplicat 1 (27%). La collecte par temps chaud a pu fragiliser les individus. Le peu d'individus utilisés pour les expériences en elles-mêmes et la prise de temps pour mettre le protocole d'élevage en place n'a pas permis d'avoir des résultats robustes. De plus, le protocole pourrait être encore adapté en améliorant les conditions de vie imposées aux Gallaselles. Par exemple, de l'argile pourrait être ajouté afin d'offrir aux individus une possibilité de fouir et de creuser des galeries, comportement qui a pu être observé par Henry et Magniez (1977). De plus, le tube digestif des individus que l'on peut observer sur substrat argileux dans le milieu naturel est rempli d'argile. Enfin, l'importance de l'argile dans le cycle de vie des individus a pu être montrée chez une autre espèce d'isopode stygobie, *Stenasellus virei* (Magniez, 1975).

3. Approche analytique par la méthode d'Analyse d'Isotopes Stables (AIS)

3.1 Objectifs

L'objectif de cette étude est de corroborer par une approche différente les résultats obtenus par les expérimentations en élevage. Cette analyse envisage également de comparer le régime alimentaire des Gallaselles à celui de deux autres espèces de crustacés stygobies (*Niphargus ladmiraulti* et *Caecospheroma burgundum*).

3.2 Principe

La méthode isotopique se base sur le fait que les individus ont une signature isotopique qui est supposée être en équilibre avec la signature isotopique des ressources disponibles dans le milieu (Boecklen *et al.*, 2011). Les isotopes trouvés dans les tissus animaux sont comparés à ceux trouvés dans le substrat (matière organique, argiles, graviers...). Les isotopes utilisés sont le carbone et l'azote. Un ratio isotopique entre les échantillons et des standards connus est calculé. Les standards sont le PeeDee Belemnite (coquille de *Belemnitella americana*) et l'air atmosphérique pour le carbone et l'azote. Ainsi, l'analyse isotopique est un outils important pour diverses recherches (reconstruction du régime alimentaire, détermination de la chaîne alimentaire, étude de la migration animale, du partitionnement des ressources, des interactions hôtes parasites, ...) (Boecklen *et al.*, 2011).

3.3 Matériels et Méthodes

3.3.1 Matériels biologiques

Les individus sont prélevés à vue sur le site de la fontaine des aquariums des Roches-Prémarie-Andillé. Les effectifs sont déterminés selon la disponibilité sur le site : 5 Gallaselles, 5 Caecosphaeromes, 3 *Niphargus* sp. Du substrat est aussi récolté (argile, graviers, algues, bois, cailloux, biofilms).

3.3.2 Méthodes

Avant de quantifier les isotopes présents dans les différents échantillons, des traitements préliminaires sur les échantillons sont nécessaires (figure 37).

a. Traitements préliminaires au laboratoire

Pendant toutes les étapes et à chaque individu manipulé, le matériel est soigneusement nettoyé à l'alcool ou changé pour éviter toute contamination entre individus.

1- Traitement à l'acide chloridrique (HCl)

Cette étape a pour objectif d'éliminer les dépôts de carbonates du milieu sur les animaux. Chaque individu est plongé pendant 2 minutes dans une boîte de Pétri remplie HCl (1.2N) puis rincé successivement dans 5 boîtes de Pétri contenant de l'eau distillée à l'aide d'une pince souple.

Chaque individu est ensuite placé individuellement dans un petit tube en verre étiqueté.

2- Préparation de la poudre des animaux et du substrat

Les tubes en verre contenant chaque substrat et animal sont placés à l'étuve réglée à 60°C pendant 48h. Ils sont ensuite réduits en poudre grâce à un pilon.

Les tubes en verre sont ensuite envoyés au laboratoire de Jyväskylä en Finlande. La suite des analyses est faite par un partenariat avec l'équipe de Fabio Ercoli.

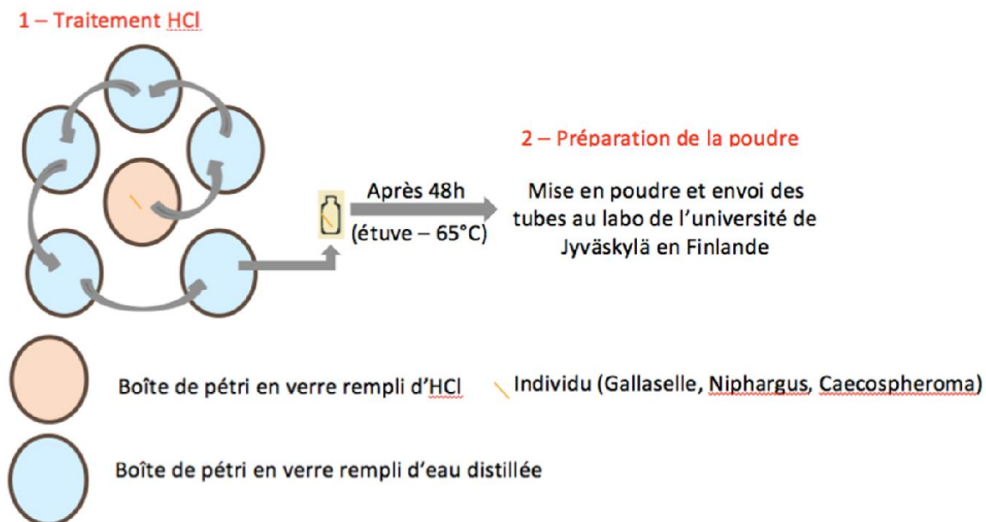


Figure 37 : Traitements préliminaires effectués au laboratoire de Poitiers

b. Méthode utilisée par le laboratoire de Jyväskylä

L'analyse des isotopes stables se fait par l'analyseur d'éléments Carlo Erba Flash EA 1112 connecté à un Thermo Finnigan DELTA plus Advantage qui est un spectromètre de masse à rapport isotopique (CF-IRMS).

La différence de ratio isotopique entre les échantillons et les standards connus sont exprimés en pourcentage selon la formule : $\delta X = ((R_{\text{sample}}/R_{\text{standard}}) - 1) \times 1000$

X représente ^{13}C ou le ^{15}N et R correspond au ratio $^{13}\text{C}/^{14}\text{C}$ ou $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$.

Pour estimer la proportion des différentes sources alimentaires ingérées par les 3 crustacés étudiés, un modèle Bayésien lancé dans R sous le package *SIAR-package* est utilisée. Ce modèle a pour avantage d'inclure les variations des signatures isotopiques du consommateur et des ressources (Ercoli *et al*, 2013).

3.4 Résultats

Les premiers résultats (figure 38) montrent les ressources principales du Caecosphérome et de la Gallaselle sont les débris de bois et de feuilles. Le Caecosphérome consommerait également de manière marginale du biofilm. Ces ressources ne concernent pas le Niphargus qui aurait un régime alimentaire typique d'un prédateur. Les algues ne semblent pas intervenir dans le régime alimentaire des trois espèces.

Néanmoins, des précautions sont à prendre concernant la Gallaselle. Les pics d'intensité montrés par les analyses d'isotopes stables sont en dessous de la valeur seuil. Ceci est probablement dû à une quantité de matériels biologiques faibles du fait de la petite taille des individus.

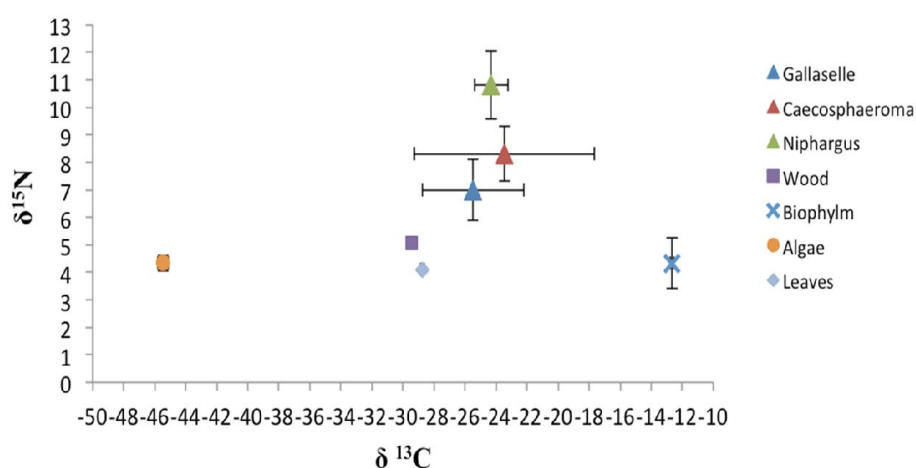


Figure 38 : Valeurs des isotopes stables pour chaque item de ressource ou espèce - D'après F. Ercoli – Université Jyväskylä

4. Discussion – Comparaison avec la méthode expérimentale (élevage)

Les résultats des deux méthodes utilisées pour déterminer le régime alimentaire des Gallaselles peuvent sembler contradictoires. Néanmoins, ils peuvent aussi être complémentaires. En effet, les Gallaselles pourraient se nourrir des débris végétaux mais la présence de biofilms pourrait être indispensable pour une première dégradation de la matière organique.

Il a été également montré que les Gallaselles auraient le même régime alimentaire que les Caecosphéromes, faisant également partie des isopodes. En revanche, il a pu être constaté que *Niphargus* sp. ont un régime alimentaire de type prédateur. Ceci a pu être remarqué lors des prospections et d'utilisation de piège à appât. En effet, lors de la récolte du contenu de ce piège, des individus (probablement *Gallasellus* sp. et autre *Niphargus* sp.) étaient en partie mangés par *Niphargus* sp. survivants.

Partie V - Propositions de mesures de conservation

1. Rappels des principaux enseignements de l'étude

L'étude a permis d'affiner nos connaissances sur la répartition de la Gallaselle en Vienne et en Deux-Sèvres. Elle a mis en évidence une zone en Vienne riche en sites à Gallaselles : le bassin du Clain en amont de Poitiers, aux alentours des Roches-Prémarie-Andillé.

La répartition de la Gallaselle ne semble pas se faire selon la physico-chimie de l'eau. La Gallaselle serait peu sensible aux nitrates. La poursuite de l'étude permettra de confirmer ces propos et d'approfondir les résultats.

Concernant son régime alimentaire la Gallaselle aurait besoin de matière organique dans son milieu pour se nourrir mais aussi de biofilm. Cela montrerait que la Gallaselle joue un rôle dans le cycle de la matière organique des milieux souterrains.

2. Importance de la mise en place d'une mesure de protection

Les eaux souterraines sont des milieux menacés, notamment par les extractions et les intrusions d'eaux de mer ou d'eaux polluées. Les extractions provoquent l'assèchement des nappes et suppriment la matrice de sédiments. Les phénomènes de contamination par les eaux de mer ou d'eaux polluées sont irréversibles et détectés souvent trop tard. L'utilisation par l'homme des eaux souterraines constituent l'une des plus grandes menaces du fait d'une demande en eau toujours plus forte. De plus, l'emploi de produits chimiques (agriculture, industrie) pollue les eaux de surface mais aussi souterraine (Danielopol *et al.*, 2003).

Les espèces de surface peuvent également constituer une menace pour les espèces inféodées au milieu souterrain. Certaines espèces acquièrent des caractéristiques physiques qui leur donnent des adaptations à la vie souterraine (dépigmentation). Des asellides de surface dépigmentés ont été retrouvés sur certains sites étudiés. L'arrivée d'espèces de surface dans le milieu souterrain pourrait constituer une menace par compétition pour les espèces stygobies. Ce phénomène peut aussi exister avec des espèces souterraines allochtones.

L'apparition d'espèces invasives menace la biodiversité menant à l'extinction d'espèces indigènes (Logde, 2001 in Mazza *et al.*, 2001). Cela a pour conséquence une altération de la structure et des fonctions des écosystèmes. Par les rivières, les espèces colonisent les eaux souterraines. Un cas a déjà été signalé en France, l'espèce asiatique *Corbicula fulminea* a été découvert dans les eaux souterraines (Müller, 1774 in Mazza *et al.*, 2013). Une menace récente signalée est l'arrivée des écrevisses invasives *Procambarius clarkii*.

Cette espèce a déjà largement colonisé les eaux de surface de l'Europe en commençant par le Portugal. Plusieurs individus ont été trouvés dans des galeries souterraines du même pays (6 individus dépigmentés) et en Italie (50 individus pigmentés). La pigmentation des individus d'Italie montre une colonisation plus récente qu'au Portugal. Cette espèce est reconnue comme étant l'écrevisse la plus invasive en Europe grâce à sa forte plasticité. Sa présence constituerait une menace sur les milieux souterrains du fait qu'elle pourrait se nourrir des espèces stygobies présentes (Mazza *et al.*, 2013).

Les espèces stygobies et leurs habitats sont rarement pris en compte dans les programmes de conservation. Pourtant les menaces sur les eaux souterraines peuvent compromettre tout un aquifère. D'une part, la stygofaune maintient le vide interstitiel, modifie les gradients redox, et influe sur l'activité du biofilm (Gibert et Deharveng, 2002). D'un point de vue structurel, les eaux souterraines sont qualifiées d'agent géologique par Toth (1999). Elles permettent dans un premier temps d'alimenter les eaux de surface. Elles maintiennent la viabilité de nombreux écosystèmes terrestres et ont un rôle crucial dans la vie des hommes et dans le développement économique (Danielopol *et al.*, 2004). Ainsi, pour toutes ces raisons biologiques et structurelles, les eaux souterraines doivent être prises en compte dans la protection des écosystèmes (Sophocleus, 2002).

Le programme PASCALIS (Protocols for the ASsessment and Conservation of Aquatic Life In the Subsurface) mené entre 2002 et 2004 avait pour objectif d'accroître les connaissances sur la stygofaune afin de proposer des mesures de gestion adéquates. Ce programme s'est fait en collaboration entre 7 laboratoires de 5 pays européens (Belgique, Espagne, France, Italie et Slovaquie) (Ferreira *et al.*, 2007). La prise en compte des eaux souterraines se fait donc progressivement, et localement la récente demande du comité national de la SCAP de se baser sur la présence de la Gallaselle pour créer des zones de protection va dans ce sens.

3. Outils de conservation à disposition

Différents dispositifs de mise sous protection d'un milieu existent. Suivant la situation, certains sont plus adaptés que d'autres. Dans le cadre d'une mise sous protection d'un milieu souterrain abritant des espèces d'intérêts telle que la Gallaselle, l'Arrêté de Préfectorale de Biotope (APB) (articles L.411-1 et L.411-2 et R.411-15 à 17 du Code de l'environnement) semble le plus adéquat. Ce dispositif est relativement simple et rapide à mettre en place. Il ne demande pas nécessairement de gestionnaire. Un Arrêté Préfectoral de Biotope a pour objectifs de protéger des sites naturels pour les maintenir sur le long terme, de prévenir la disparition des

espèces protégées par la fixation d'interdictions qui peuvent nuire à leur alimentation, leur survie, leur repos. C'est le préfet qui met en place ce dispositif après un rapport effectué par la DREAL. Des sanctions sont prévues en cas de manquement au règlement imposé par l'arrêté (article R.415-1 du code de l'environnement).

4. Arrêté Préfectoral de Biotope sur la commune des Roches-Prémarie-Andillé

4.1.1 Choix du bassin versant du ruisseau des Dames

Le choix de la zone à protéger a été motivé par la présence de 4 sites où la Gallaselle a été trouvée, dont 2 présentant des populations importantes et ayant servis pour cette étude : la fontaine d'Andillé, les deux fontaines de la commune des Roches-Prémarie (fontaine des aquariums et fontaine du Clos des Roches), la source de Font-Mart à Aslonnes.

La protection de ces sites permettrait de préserver la biodiversité génétique des Gallaselles qui d'après les données récentes des spécialistes lyonnais formeraient 3 espèces cryptiques.

De plus, dans certains de ces sites des espèces typiques des eaux souterraines du Poitou-Charentes ont été retrouvées en association. On peut citer *Niphargus ladmiraulti*, *Caecosphaeroma burgundum* et un mollusque du genre bythinelle.

Par ailleurs, des zones ZNIEFF (Zones Naturelles d'Intérêt Ecologique Faunistique et Floristique) se trouvent au sein de la zone proposée à la protection. Ces zones ZNIEFF ont été créées afin de protéger les sources tuffeuses présentes qui abritent des mousses. Font-Mart est la plus importante station en *Dipsacus pilosus* (une cinquantaine d'individus) parmi les 3 présentes en Vienne.

Un autre point important que l'on peut souligner est l'opportunité qu'offrent les Roches-Prémarie-Andillé pour la communication et la sensibilisation du grand public. La ville possède des lavoirs aménagés où se trouvent des aquariums qui présentent la faune aquatique locale. Ces aquariums sont gérés par Alban Pratt animateur au CPN (Connaître et Protéger la Nature) l'Arantelle des Roches-Prémarie-Andillé.

Ainsi, une zone de protection autour de ces différents sites basée sur le bassin versant du ruisseau des Dames (figure 39) et une partie du bassin versant du Clain a été élaborée. Cette zone a été délimitée via la courbe de niveau 115 par le cours d'eau du Clain à l'ouest et par la délimitation de la zone ZNIEFF existante au sud. Cette zone est comprise dans les communes des Roches Prémarie-Andillé et d'Aslonnes.



Figure 39 : Délimitation de la zone de protection

4.1.2 Mesures de gestion préconisées dans le cadre de l'APB

Une première mesure à proposer est l'interdiction de la destruction de tous les habitats souterrains présents sur la zone. En effet, même si la Gallaselle n'a pas été observée sur d'autres sites de la zone, elle pourrait y être présente.

L'occupation des sols selon Corine Land cover (figure 40) montre la présence d'un tissu urbain discontinu, d'activités agricoles et de loisirs sur la zone de protection envisagée. Des espaces naturels sont également présents. De plus, proche des deux fontaines (fontaine des aquariums et fontaine du Clos des Roches), les jardins potagers de particuliers sont nombreux. Ainsi, pour éviter toute pollution des eaux, une interdiction stricte de toute utilisation de pesticides et d'engrais chimique doit être mise en place. Pour favoriser cela une communication autour de méthode de cultures alternatives (biologiques) pourrait être envisagée.

Les analyses d'eau n'ont pas révélés de grosse pollution chimique sur les sites. Toutefois, on peut noter la valeur de 50 mg/L de nitrate à la fontaine des Aquariums qui est une valeur seuil de pollution (norme de potabilité OMS). Ceci justifierait, l'arrêt des intrants au niveau des cultures agricoles.

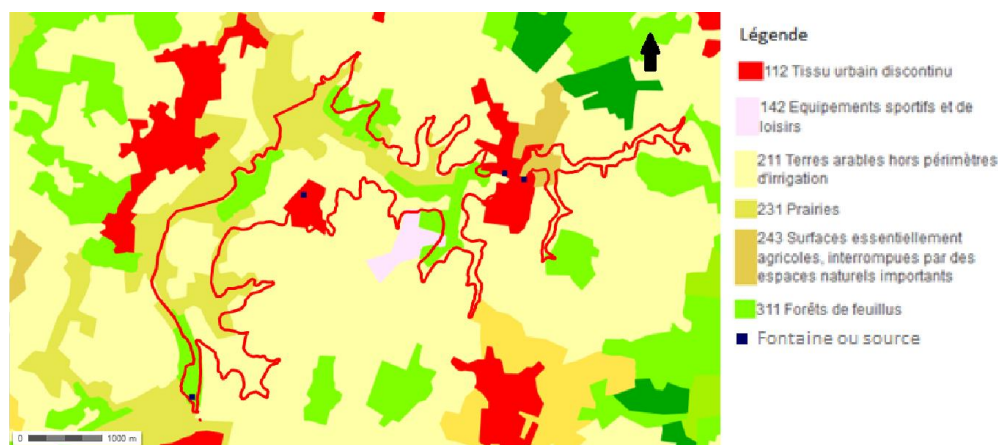


Figure 40 : Occupation du sol selon Corine Land cover 2006 sur la zone proposée en APB

Les algues présentes à la fontaine des aquariums devront aussi être éliminées au fur et à mesure de leur apparition. D'autant plus, qu'il a pu être montré par l'analyse des isotopes stables que ces algues ne font pas partie du régime alimentaire des Gallaselles, des Caecosphéromes et *Niphargus sp.*.

Outre la pollution chimique, il a été constaté à la fontaine du Clos des Roches une forte pollution par débris (bouteilles en verre, emballages divers, ustensiles,...). Une dépollution est envisagée avec Alban Pratt courant septembre dans le cadre d'une opération de sensibilisation auprès des scolaires et du grand public. Cela sera fait en collaboration avec l'association Arantelle et la mairie des Roches-Prémarie-Andillé.

Pour assurer la tranquillité des sites, une fermeture totale doit être envisagée. Concernant la Fontaine des aquariums, l'accès est déjà condamné grâce à une grille cadénassée. Concernant la Fontaine du Clos des Roches et d'Andillé, des grilles sont déjà posées mais il est de cadénasser ces grilles. La source de Font-Mart à Aslonnes est située en contrebas de la route protégée par des arbres, il ne semble pas nécessaire d'aménager des structures autour de celle-ci.

Enfin, même si les Arrêtés Préfectoraux de Biotope n'ont pas vocation à faire de suivis particuliers, il pourrait être intéressant de retourner prospecter ces sites dans un an pour contrôler les populations et étudier la dynamique des Gallaselles, après les fortes pressions de collecte imposées pour cette étude.

4.1.3 Revalorisation des sites

Pour revaloriser les différentes structures déjà en place, des aménagements peuvent être faits :

- Fontaine du clos des Roches : dégagement des entrées par un éclaircissement au niveau de la végétation ; réhabilitation du site dans son aspect historique originel
- Fontaine d'Andillé : changement de la grille d'entrée à la Fontaine d'Andillé.
- Fontaine des aquariums : mise en valeur du site en modifiant la grille principale et la grille de sortie d'eau vers les lavoirs ; suppression des canalisations plastiques non utilisées

4.1.4 Sensibilisation et communication

La commune des Roches-Prémarie-Andillé, en la personne de son représentant Alban Pratt, s'est montrée très favorable pour sensibiliser et communiquer autour de la Gallaselle et des milieux souterrains. En effet, les aquariums aménagés font déjà l'objet de nombreuses

visites et de sorties pédagogiques. Ainsi, dans le cadre de ces présentations de la faune aquatique locale, la stygofaune pourra y être intégrée. D'autant plus que l'animateur Alban Pratt s'est montré a proposé de mettre en place des aquariums spécialement adaptés (lumière infra-rouge et loupe grossissante) pour présenter les différentes espèces présentes dans la fontaine des aquariums (*Niphargus ladmiraulti*, *Caecosphaeroma burgundum*, *Gallasellus* sp). De plus, un nouveau panneau d'information (annexe 8) a été réalisé en s'inspirant de celui présentant la faune aquatique locale existant sur le site. Il pourra être rajouté sur le site des lavoirs, à proximité de la fontaine. Ce panneau a pour objectif d'être attractif et de montrer succinctement une partie de la faune stygobie du Poitou-Charentes. Des sorties accompagnées pourraient être envisagées en complément à la fontaine du Clos des Roches, dont les eaux sont physiquement accessibles.

Cette zone sera donc proposée à la DREAL en tant que zone prioritaire à protéger par la mise en place d'un Arrêté Préfectoral de Biotope. Afin de laisser à la commission de la DREAL la décision du site à protéger, un choix entre plusieurs zones leur sera soumis. Pour cela, un site par département sera proposé à la fin de l'étude. Concernant les Deux-Sèvres, la rivière souterraine de Bataillé, site historique de découverte de la Gallaselle, semble s'imposer du fait que le site est déjà en partie protégé par sa situation souterraine et par la valorisation en tant que site-école mise en place par la communauté spéléologique. Ses alentours pourraient néanmoins être protégés vis-à-vis des intrants agricoles.

Bibliographie

- Boecklen W.J., Yarnes C.T., Cook B.A., James A.C. (2011) On the Use of Stable Isotopes in Trophic Ecology. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **42**, 411–440.
- Bouchon D., Rigaud T, Juchault P. (1998) Evidence for widespread *Wolbachia* infection in isopod crustaceans: molecular identification and host feminization. *Proceedings of the Royal Society of London B*, **265**, 1081-1090.
- Cordaux R., Pichon S., Ben Afia Hatira H., Doublet V., Grève P., Marcadé I., Braquart-Varnier C., Souty-Grosset C., Charfi-Cheikhrouha F., Bouchon D. (2012) Widespread *Wolbachia* infection in terrestrial isopods and other crustaceans. *Zookeys*. **176**, 123-131
- Danielopol D.L., Gibert J., Griebler C., Gunatilaka A., Hahn H.J., Messana G., Notenboom J., Sket B. (2004) Incorporating ecological perspectives in European groundwater management policy. *Environmental Conservation*, **31**, 185–189.
- Danielopol D.L., Griebler C., Gunatilaka A., Notenboom J. (2003) Present state and future prospects for groundwater ecosystems. *Environmental Conservation*, **30**, 104–130.
- Ercoli F., Ruokonen T.-J., Hämäläinen H., Jones R.-I. (2013) Does the introduced signal crayfish occupy an equivalent trophic niche to the lost native noble crayfish in boreal lakes ? *Biology invasions*
- Ferreira D. (2005) Biodiversité aquatique souterraine de France : Base de données, patrons de distribution et implications en termes de conservation. Thèse de l'Université de Lyon I, 97p

- Ferreira D., Malard F., Dole-Olivier M.-J., Gibert J. (2007) Obligate groundwater fauna of France: diversity patterns and conservation implications. *Biodiversity and Conservation*, **16**, 567–596.
- Gibert J., Culver D.C., Dole-Olivier M.-J., Malard F., Christman M.C., Deharveng L. (2009) Assessing and conserving groundwater biodiversity: synthesis and perspectives. *Freshwater Biology*, **54**, 930–941.
- Gibert J., Danielopol D., Stanford J. A. (1994) Groundwater ecology, Academic Press, San Diego, 573p.
- Gibert J. et Deharveng L. (2002) Subterranean Ecosystems: A Truncated Functional Biodiversity *BioScience*, **52**, 473–481.
- Gonser T. (2001) Les eaux souterraines – un milieu obscure, EAWAG news 49, p6-11
- Hamon B. (2003) Crustacés : le Niphargus, hôte des ténèbres, BT. Bibliothèque de travail, 1152
- Henry J.-P. et Magniez G. (1977) Observations sur *Gallasellus heilyi* (Legrand, 1956) représentant d'un nouveau genre d'asellide souterrain de France. *Bulletin de la Société Zoologique de France*, **102**, 215-222
- Hervant F., Mathieu J., Durand J. (2001) Behavioural, physiological and metabolic responses to long-term starvation and refeeding in a blind cave-dwelling (*Proteus anguinus*) and a surface-dwelling (*Euproctus asper*) salamander. *Journal of Experimental Biology*, **204**, 269–281.
- Juberthie C. et Decu V. (1994,1998, 2001) Encyclopedia Biospeleologica, Société de Biospéléologie, Moulis et Bucarest, 2294p.
- Laurent M. et Lamarque P. (1975) Utilisation de la méthode des captures successives (De Lury) pour l'évaluation des peuplements piscicoles, **259**, 66-77
- Lefebvre F., Caillon M., Fillon, B. (2013). Actes du Séminaire National Gallaselle. Séminaire National Gallaselle, université de Poitiers, 20-21 septembre 2012. Poitou-Charentes Nature édition, Fontaine-le-Comte, 33 p.
- Legrand J.-J. (1956) Contribution à l'étude de la faune cavernicole de l'ouest de la France. II. - *Asellus Heilyi*, n. sp. *Notes Biospéléologiques*, **11**, 43-51.
- Magniez G. (1975) Observations sur la biologie de *Stenallus virei* (Crustacea Isopoda Asellota des eaux souterraines). *Journal de Spéléologie*, **7**, 79-22
- Mazza G., Sofia A., Reboleira P.S., Goncalves F., Aquiloni L., Inghilesi A., Spigoli D., Stoch F., Taiti S., Gherardi F., Tricarico E. (2014) A New Threat to Groundwater Ecosystems: First Occurrences of the Invasive Crayfish *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) in European Caves. *Journal of Cave and Karst Studies*, **76**, 62–65.
- Morvan C., Malard F., Paradis E., Lefebvre T., Konecny-Dupre L., Douady C. J. (2013) Timetree of Aselloidea Reveals Species Diversification Dynamics in Groundwater. *Systematic Biology*. *Systematic biology* **62**(4), 512–22
- Sket B. (1999) The nature of biodiversity in hypogean waters and how it is endangered. *Biodiversity & Conservation*, **8**, 1319–1338
- Sophocleous M. (2002) Interactions between groundwater and surface water: the state of the science. *Hydrogeology Journal*, **10**, 52–67
- Trouilhé M.-C. (2006) Etude biotique et abiotique de l'habitat préférentiel de l'écrevisse à pattes blanches (*Austropotamobius pallipes*) dans l'ouest de la France. Implications pour sa gestion et sa conservation. Thèse de l'université de Poitiers, 260p.
- Werren. J.-H. (1997) Biology of *Wolbachia*, Annual Review of Entomology, **42**, 587-609

Sitologie

<http://www.vienne-nature.asso.fr/>

<http://www.poitou-charentes-nature.asso.fr/>

<http://ecoevol.labo.univ-poitiers.fr/>

<http://www.brgm.fr/>

<http://www.geoportail.gouv.fr/accueil>

ANNEXES

Annexe 1 : Tableau sur l’historique des observations de Gallaselles dans le centre-ouest de la France.....	1
Annexe 2 : Exemple de fiche « topo station » (Puits Sureau).....	2
Annexe 3 : Exemple de fiche collecte (Puits Sureau)	4
Annexe 4 : Exemple de fiche Tri et Détermination (Puits Sureau)	6
Annexe 5 : Observations inédites sur la biologie de la Gallaselle	7
Annexe 6 : Méthode PCR : Test de présence de <i>Wolbachia</i>	8
Méthodes PCR (<i>Polymerisation Chain Reaction</i>).....	8
Annexe 7 : Traitement des données de survie par Kaplan-Meier (autre façon de visualiser la figure 34)	11
Annexe 8: Proposition d’un panneau d’information sur la faune stygobie inspiré d’un panneau existant.....	13
Annexe 9 : Article de journal sur l’objet d’étude suite à une prospection à Thénézay dans les Deux-Sèvres	15

Annexe 1 : Tableau sur l'historique des observations de Gallaselles dans le centre-ouest de la France

Date	Nom	Département	Commune	Source/Ref./Informateur
1955	Rivière souterraine de Bataillé	79	Gournay-Loizé	Legrand, 1956
1960	Rivière souterraine de Bataillé	79	Gournay-Loizé	Pierre Juchault, comm. pers. , 2012
1970	Rivière souterraine de Bataillé	79	Gournay-Loizé	Henry & Magniez, 1977
1970	Fontaine de Sompt	79	Sompt	Henry & Magniez, 1977
1992	Puits de Saint-Denis-d'Oléron	17	Saint-Denis-d'Oléron	Magniez & Henry, 2001
2008	Fontaines de Sompt	79	Sompt	Douady & Malard, comm. pers. , 2012
2008	Fontaine au Roi	17	La Jarrie-Audouin	Douady & Malard, comm. pers. , 2012
2008	Source de la fontaine des Veuves	17	Saint-Pierre-de-l'Isle	Douady & Malard, comm. pers. , 2012
2009	Résurgence de Cul Froid	36	Mérignv	Douady & Malard, comm. pers. , 2012
2009	Puits du Thou	17	Le Thou	Douady & Malard, comm. pers. , 2012
2013	Lavoir de la Fontaine	79	Luché-sur-Brioux	Jean-Michel Amiot, comm. pers. , 2013

Annexe 2 : Exemple de fiche « topo station » (Puits Sureau)

Puits "Sureau" à Vaussais

Département : 79

Commune : Sauzé-Vaussais (Code Officiel Géographique - INSEE)

Lieu-dit/Toponymie : Vaussais – rue de l'Église/des Brouettes (IGN)

Coordonnées Géographiques :

- latitude/longitude (DS) : 46°07'14.9''N / 0°06'17.8''E (GéoPortail)

- X/Y/Z (Lambert 93) : 476486.30 / 6561987.36 / 129 (GéoPortail)

Étage géologique : Bathonien (carte papier BRGM)

Aquifère : Civraisien / Dogger (RHF v1 – OIE via SIGORE)

Bassins versants : la Péruse < la Charente (BD Carthage 2011 – IGN via SIGORE)

Typologie habitat : (EUNIS ou CORINE Biotope)

Occupation sols (amont/alentours) : systèmes culturels et parcellaires complexes

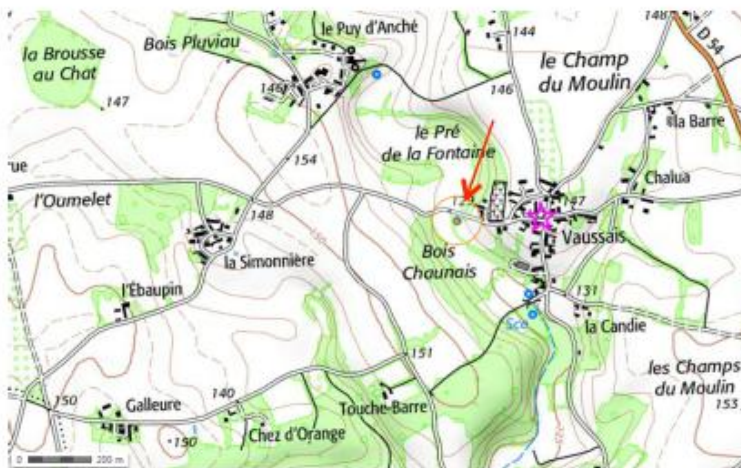
(CLC 2006 via <http://sd1878-2.sivit.org/>)

Histoire locale : Saint Junien (né en 501) est le Patron des laboureurs en Poitou ; il édifie le monastère de Mairé Levescault et demeure une figure de légende pour les Poitevins (cf. site Mairie Sauzé-Vaussais). L'église locale (fin du Xe siècle - début du XIe) du hameau de Vaussais lui est dédiée (en rénovation début 2014 et soutenue par la Fondation du Patrimoine).

Biblio : puits référencé 06376X0377/P dans la BSS du BRGM ; nommé puits « Sureau » dans la fiche BRGM (profondeur donnée à 8.97m et 5.72m en surface en août 1986)

Remarques : puits en bord de Péruse, env. 500 m en amont du lavoir/fontaine de Saint Junien ; en connexion avec rivière temporaire en assec l'été, et en vallée inondée l'hiver. Système karstique (jurassique moyen) à l'origine des pertes superficielles en amont sur la Péruse (cours d'eau présentant de longs assecs structuraux en période d'étiage) et de résurgences constituant les sources du Lien en aval (cf. Diagnostic SAGE Charente 2014) ; état de la Péruse jugé « Moyen » en 2007 (cf. Diagnostic SAGE Charente 2014) ; zone bocagère relativement préservée en comparaison avec autres BV, mais Nitrates sur Lien-Péruse donnés entre 47 et 69 mg/L (cf. Diagnostic SAGE Charente 2014) ; phosphore minéral (orthophosphates) en forte concentration sur le Lien-Péruse, concourant au développement des végétaux en cours d'eau et une désoxygénation de l'eau (macrophytes, bryophytes, lentilles d'eau, algues filamenteuses...) (cf. Diagnostic SAGE Charente 2014). La Péruse (ou Péruze) fait 23,9 km de longueur ; traversant un terrain calcaire de nature karstique, elle est intermittente entre Vaussais et Péruse, devient une petite rivière entre Montjean et Londigny, puis disparaît à nouveau en été entre Bernac et Ruffec. Grossi par une source au pied de l'ancien château de Ruffec, le ruisseau de la Péruse devient alors le Lien jusqu'à sa confluence avec la Charente sur sa rive droite (<http://fr.wikipedia.org>).

Localisation IGN :



Accès depuis centre-bourg du hameau de Vaussais (commune de Sauzé-Vaussais), via route en direction Lorigné, sur la gauche après env. 300 m, juste avant le pont traversant la Péruse (limite rue de l'Église/des Brouettes)

Illustrations et Photos :





Collecteur(s) / Observateur(s) : F L + M D + M C + M B + J M A

Date : 17 / 02 / 2014 H. arrivée : 15 h 30 min H. départ : 17 h 20 min

Nom Station : P U I T S S U R E A U
Lieu-dit : V A U S S A I S
Commune : S A U Z E - V A U S S A I S **Département :**
Latitude (DS) : 4 6 ° 0 7 ' 1 4 . 9 " N **Longitude (DS) :** 0 0 ° 0 6 ' 1 8 . 0 0 " E
Altitude : 1 3 7 m **Autres systèmes / Remar**
Photo : ☐

Nature du substrat :			
matière organique ☒	argile/limon ($\approx \mu\text{m}$) ☐	sable ($< 2 \text{ mm}$) ☐	
graviers (2-10 mm) ☒	cailloux (10-100 mm) ☐	pierre/bloc ($> 10 \text{ cm}$) ☐	

Débit d'eau :			
nul ☐	faible ☐	moyen ☐	fort ☐
= vitesse :	. m/s	x largeur :	. m
		x profondeur :	. m = m ³ /s

mg/L	mg/L	mg/L	
Qualité d'eau :	T : . °C	pH : .	Ev : . mS/cm TDS : ppm
Oxygène(O ₂)x2	. mg/L	Ammonium (NH ₄ ⁺) :	0 mg/L Phosphate (PO ₄ ²⁻) :
			0 mg/L
Sulfate (SO ₄ ²⁻) :	0 mg/L	Nitrate/ite (NO _{3/2} ⁻) :	5 0 / 0 mg/L
Carbonate (CaCO ₃) :	0 ° (x17.8) :	1 7 8 mg/L	Pollution /détritus : RAS

Biotope (amont) :			
g ^{des} cultures ☐	bocage/prairies ☒	cours d'eau ☐	mares/étangs ☐
marais ☐	tourbières ☐	zones urbaines ☐	forêts ☐
		pelouses sèches ☐	landes ☐
falaises calcaires ☐	roches siliceuses ☐	galeries souterraines ☐	littoral halophile ☐
Flore (alentours immédiats) : Lière – Pissenlit – Véronique – Lamiée pourpre – Orthie - Mercuriale Annuelle – ronce – Arum sp – Herbe à robert – Benoite des villes – prunelier – Fusain -Anthriscue Noyer – Ficaire - Pâquerette			
Faune (alentours immédiats) : Femelle Triton marbré – 15 cm tête queue			

ID Prélèvement (PC + N° Dpt + 3 Initiales Station + N°collecte) :			
P	C	7 9 S	U R 2 (ex. : PC86GAS1)
Méthode(s) :			
à vue ☐	filtrage substrat ☐	sondage Bou-Rouch ☐	filet Cvetkov ☒
piège à appât ☐	piège à habitat ☐	piège filtrant ☐	pompage ☐
Effort d'échantillonnage (durée, nombre, volume) : 4x FL + MD			

 **Fiche de tri et détermination -
Gallaselles et faune stygobie
en Poitou-Charentes**

ID Station : P U I T S S U R E A U

FL + ND

ID Prélèvement : P C 7 9 S U R 2

Date : 1 8 / 0 2 / 2 0 1 4

Observateur(s) :

[illegible]

François Lefebvre : 14, rue Jean Moulin, 86240 Fontaine-le-Comte
Tél. 05 49 88 99 04 / Fax : 08 26 99 86 21 / Courriel : francois.lefebvre@eco-analyses.com

Annexe 5 : Observations inédites sur la biologie de la Gallaselle

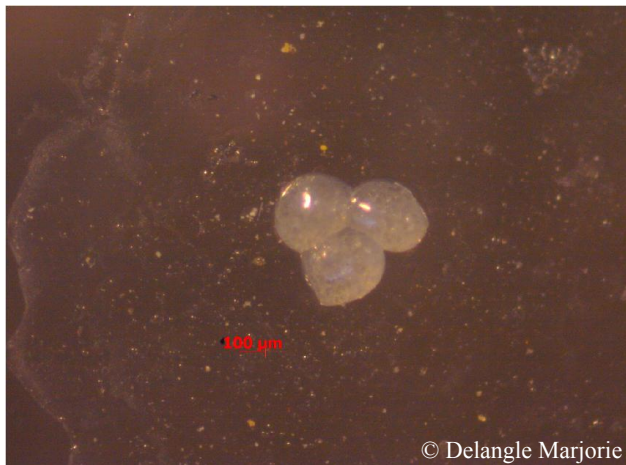


Figure 1 : Oeufs de Gallaselle



Figure 2 : Embryon dans marsupium



Figure 3 : Embryon dans marsupium



Figure 4 : Gallaselle en « catalespie »



Figure 4 : Mue antérieure



Figure 4 : Mue postérieure

Annexe 6 : Méthode PCR : Test de présence de *Wolbachia*

Méthodes PCR (*Polymerisation Chain Reaction*)

La PCR a été faite à l'aide de Catherine DEBENEST, Maryline RAIMOND et Carine DELAUNAY.

Extraction ADN, méthode Wilson

Préparation des individus

Les Gallaselles sont directement placés dans des tubes eppendorf de 1,5 mL annotés contenant 5µL de protéinase K et 400µL de Tampon Wilson. Les Gallaselles sont des individus trop petits pour subir une dissection.

Les tubes sont incubés au bain-marie à 37°C pendant 4 heures pour activer l'action de la protéinase K et du tampon Wilson.

Le Tampon Wilson a pour but de lyser les cellules pour libérer l'ADN et dénaturer les protéines. La protéinase K est ajoutée pour protéger l'ADN de la digestion.

Ces trois dernières étapes ont été réalisées par Catherine Debenest (technicienne du laboratoire EES).

Extraction Phenol/Chloroforme de l'ADN

Cette phase a pour but l'extraction de l'ADN et la déprotéinisation de la solution grâce à l'ajout de solvant. Pour cela un demi-volume de Phénol (200 µL) et un demi volume de Chloroforme isoamyle (200 µL) sont ajoutés aux différents tubes eppendorf. Les solutions sont mélangées par retournement. Tous les tubes sont centrifugés à 11300 tours par minutes pendant 8 minutes à 15°C. La phase aqueuse est ensuite récupérée. C'est dans cette phase que l'ADN se trouve. Cette étape est réalisée deux fois.

L'extraction se termine par un ajout d'un volume de Chloroforme isoamyl (400 µL). Les tubes sont mélangés par retournement et centrifugés à 11300 tours par minutes pendant 8 minutes à 15°C. La phase aqueuse est une nouvelle fois récupérée.

Précipitation de l'ADN

L'ADN est précipité grâce à l'ajout d'un quart de volume d'Acétate de sodium (40 µL) et d'un volume d'isopropanol (400 µL). Les solutions sont agitées et laissées une nuit à -20°C.

Rinçage de l'ADN

Cette étape a pour but de nettoyer l'ADN en supprimant les traces d'isopropanol. Pour cela une centrifugation est effectuée à 4°C pendant 30 minutes à 15000 tours par minutes. Le surnageant est ensuite enlevé, l'ADN est culotté. 500 µL d'éthanol 70% froid sont ajoutés et une nouvelle centrifugation est réalisée. Le surnageant est une nouvelle fois éliminé. Cette étape est répétée une fois. Pour éliminer le reste d'éthanol, les tubes sont mis sous lumière chauffante sous la hotte.

Les tubes sont ensuite remplis de 30 µL d'eau stérile et sont déposés dans ceux des Gallaselles.

Quantification de l'ADN

Pour quantifier l'ADN, un nanodrop est utilisé. Les concentrations et la qualité de l'ADN (rapports 260/280 et 260/230) sont montrées sur le tableau III. Ces données permettent de définir la quantité d'ADN mises pour les réactions PCR.

Réaction d'amplification : PCR

Au total 21 amplifications (15 Gallaselles, 3 Niphargus, 1 Caecosphaeroma, 1 témoin positif (*Armadillidium vulgare*) et 1 témoin négatif (H₂O)) sont réalisés. Un mix PCR est préparé pour faire 22 tubes de 24,5 µL. Un tube est rajouté pour parer à d'éventuelles erreurs de pipetage.

Le mix PCR est composé d'une solution tampon Buffer 5X (110 µL) comprenant le tampon de charge pour l'électrophorèse, de bases ADN, dNTP (11 µL), d'amorces Forward (F) et Reverse (R) (55 µL) complémentaire au gène Wsp, d'une enzyme GoTaq pour activer l'élongation (2,75 µL) et d'H₂O (305,25 µL). 24,5 µL de ce mix sont déposés dans chaque tube. A ce mix est rajouté l'ADN de chaque individu. Ce sont les données acquises avec le nanodrop qui permettent de définir la quantité d'ADN à déposer dans les tubes. Au vue des quantités faibles d'ADN pour les Gallaselles et le Caecosphaeroma, 10 µL d'ADN sont utilisés. Pour les deux témoins, ce sont respectivement 5 µL d'ADN d'*Armadillidium vulgare* et d'H₂O qui sont déposés.

Les tubes sont mis au thermocycleur programmé (figure 1). Les tubes sont ensuite laissés à 15°C jusqu'à l'étape suivante.

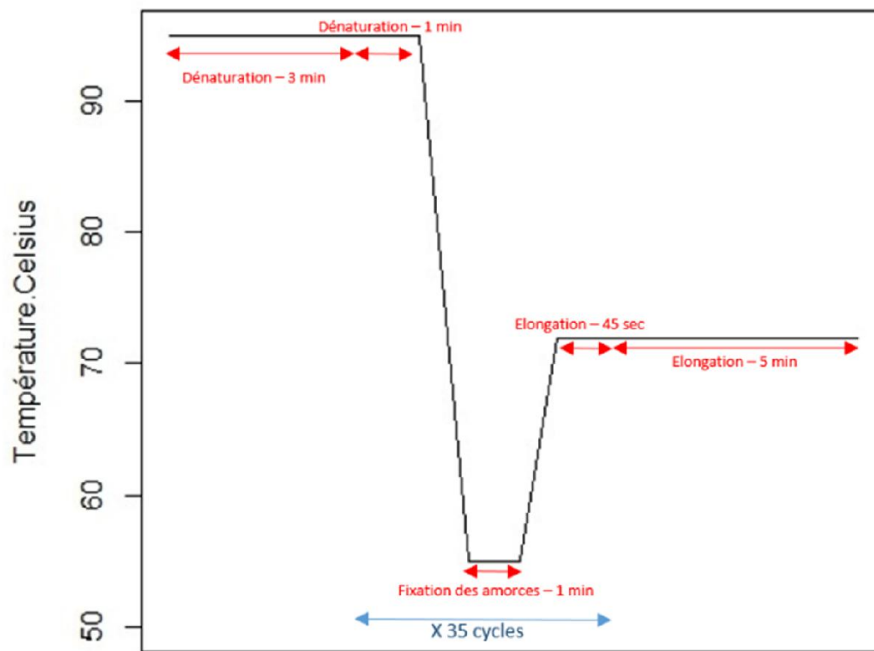


Figure 1 : Programme lancé dans le thermocycleur

Electrophorèse en gel d'agarose

Préparation du gel

Le gel d'agarose est coulé dans un support de façon à avoir une épaisseur de 5 mm. Les peignes (permettant de créer les puits) sont positionnés et le tout est laissé polymériser pendant environ 30 minutes. Le gel est ensuite déposé dans une cuve d'électrophorèse contenant un tampon de migration (TAE 0,5X) qui recouvre le gel.

Dépôt des échantillons

Les 21 échantillons sont déposés dans les puits. Un marqueur de taille est rajouté dans un dernier puits. La migration est ensuite lancée à 100 uv pendant 25 minutes.

Révélation

Après migration les gels sont baignés dans du BET pendant environ 30 minutes. Grâce à une table UV, une photo du gel est prise.

Annexe 7 : Traitement des données de survie par Kaplan-Meier (autre façon de visualiser la figure 34)

Kaplan-Meier par bac

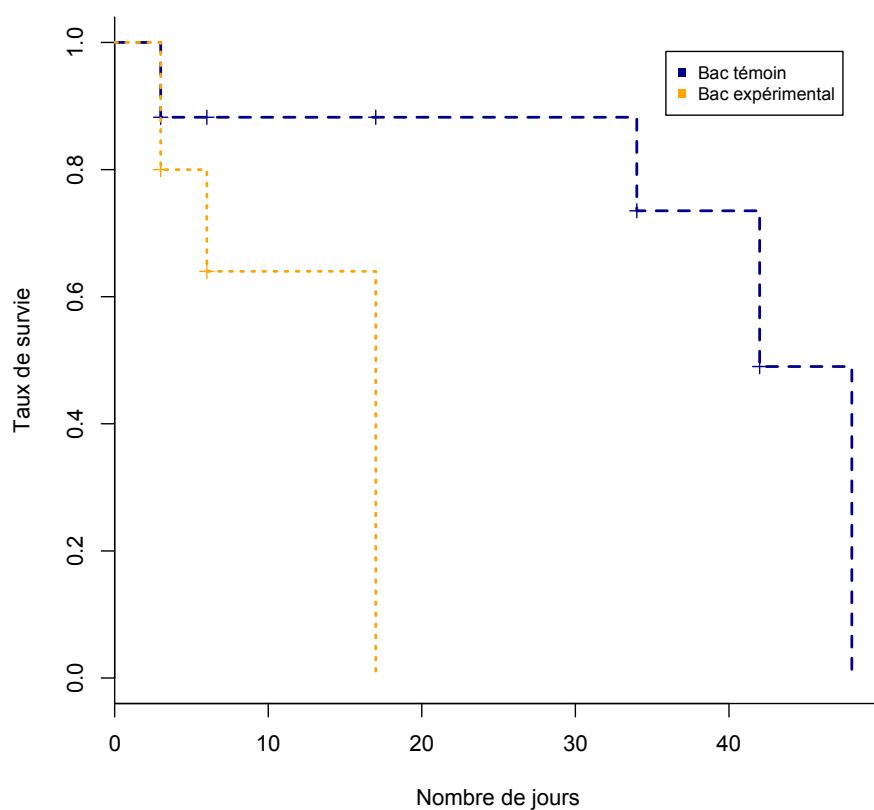


Figure 1 : Kaplan-Meier sur l'ensemble du réplicat 1

Kaplan-Meier par bac lors de la phase 1 du réplicat 2

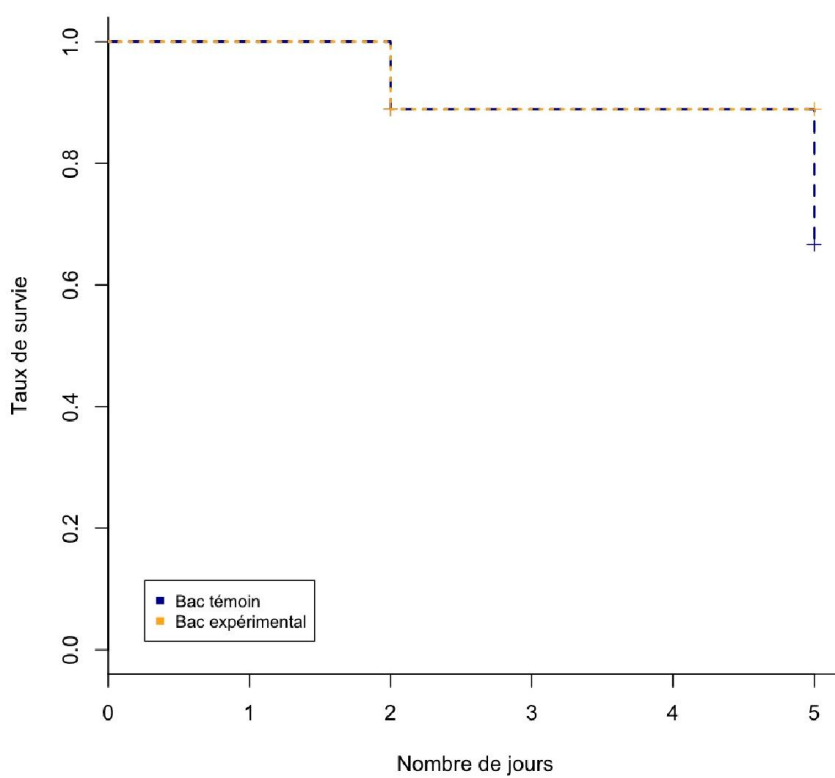


Figure 2 : Kaplan-Meier sur la phase 1 du réplicat 1

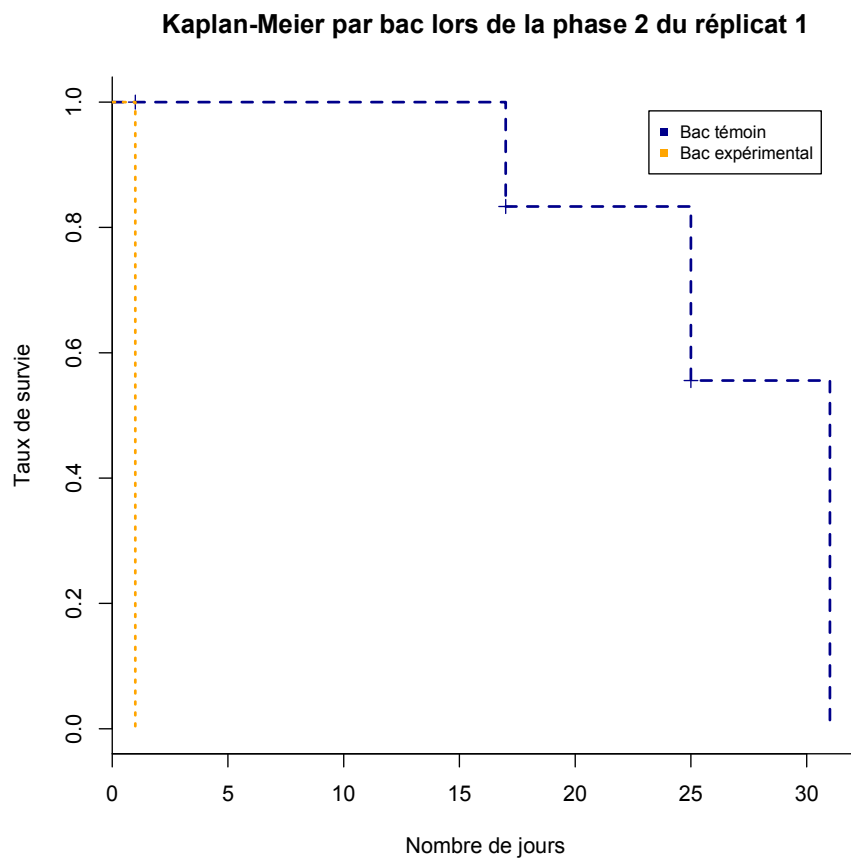


Figure 3 : Kaplan-Meier sur la phase 2 du réplicat 1

Annexe 8: Proposition d'un panneau d'information sur la faune stygobie inspiré d'un panneau existant

Panneau d'information existant sur la faune aquatique locale :



Panneau proposé dans le cadre de cette étude sur la faune aquatique souterraine

Les eaux souterraines : Réservoir d'eau et de biodiversité

Les eaux souterraines constituent la plus grande réserve d'eau douce sur terre et sont utilisées pour diverses activités humaines. Elles constituent également un milieu riche en diversité faunistique. La préservation de ces milieux est essentielle pour pouvoir continuer à en utiliser les ressources et cela passe par la protection des espèces inféodées à ces milieux.

Les espèces vivant dans les eaux souterraines sont appelées espèces stygobies et possèdent des caractéristiques propres à la vie souterraine. L'ensemble de ces caractéristiques est appelé le syndrome troglomorphe :

- Dépigmentation
- Anophtalmie – absence d'yeux
- Métabolisme réduit
- Durée de vie plus longue que les espèces de surface

Je ressemble au Cloporte terrestre et comme lui je me roule en boule lorsque je suis menacé. J'appartiens à l'ordre des Isopodes et à la famille des Sphaeromatidae.

J'ai été découverte dans les Deux-Sèvres. A ce jour 10 sites où je suis présente sont connues dont 2 sur la commune des Roches-Prémarie. Je ne mesure pas plus de 6 mm. J'appartiens à l'ordre des Isopodes et à la famille des Asellidae.

Je suis surnommé « Crevette des cavernes » et je ressemble au Gammarus des eaux de surface. Je me déplace couché sur le côté. J'appartiens à l'ordre des Amphipodes et à la famille des Niphargidae qui comptent une trentaine d'espèces en France.

Je suis un mollusque du genre Bythinella. Je suis majoritairement retrouvé à l'émergence des sources. Ma coquille est de forme allongée et a des tours de spires convexes. 2 espèces sont connues en Vienne : Bythinella jourdei et Bythinella vimperei




© Sophie Perreau – Alban Pratt – François Lefebvre
– Delangle Marjorie

Les eaux souterraines : Réservoir d'eau et de biodiversité

Les eaux souterraines constituent la plus grande réserve d'eau douce sur terre et sont utilisées pour diverses activités humaines. Elles constituent également un milieu riche en diversité faunistique. La préservation de ces milieux est essentielle pour pouvoir continuer à en utiliser les ressources et cela passe par la protection des espèces inféodées à ces milieux.

Les espèces vivant dans les eaux souterraines sont appelées espèces stygobies et possèdent des caractéristiques propres à la vie souterraine. L'ensemble de ces caractéristiques est appelé le syndrome troglomorphe :

- Dépigmentation
- Anophtalmie – absence d'yeux
- Métabolisme réduit
- Durée de vie plus longue que les espèces de surface



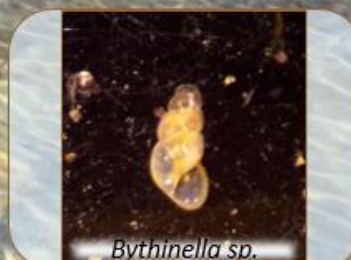
Caecosphaeroma buraundum



Gallasellus heilvi



Niphargus admiraulti



Bythinella sp.




© Sophie Perreau – Alban Pratt – François Lefebvre
– Delangle Marjorie

Annexe 9 : Article de journal sur l'objet d'étude suite à une prospection à Thénézay dans les Deux-Sèvres

thénézay

la NR du 23/08/14 7276

Recherche de petits animaux aquatiques

||
||
Dernièrement, le botaniste Michel Bonnessée et quelques membres de l'association « Poitou Charente nature » de Poitiers se sont retrouvés pour procéder à des prélèvements dans les puits de Thénézay, et voir si on pouvait trouver un petit crustacé appelé « Gallaselle » qu'on ne trouve qu'en Poitou-Charentes et au Canada (séparation des continents). La France a donc une responsabilité particulière pour aménager des zones de protection. D'autres petits animaux, sont aussi recherchés, par exemple des petits gastéropodes vivant dans le noir au fond des puits. Avec des cordes lestées, des seaux et une sorte de filet en entonnoir, avec au bout une boîte transparente, plusieurs tentatives ont permis de remonter des indices très intéressants à Puy-sau, dont un spécimen de 7 mm, ayant la forme d'une minuscule crevette, il s'agit certainement d'un « Niphargus ». Des études plus poussées seront faites en laboratoire avec



Prélèvement sur le puits de l'Espace Saint-Johann, exceptionnellement ouvert.

les équipements nécessaires. La profondeur des puits se situe entre 20 et 30 mètres, la température de l'eau est de 14 à 15° et l'analyse des nitrates a

été faites sur place avec un résultat plutôt satisfaisant. D'autres analyses vont être effectuées avec les nombreux flacons collectés... L'associa-

tion « Thépacap » qui est très intéressée par tout ce qui concerne les puits était sur place et pour suivre la méthode des prélèvements.

Résumé

La Gallaselle (*Gallasellus sp.*, Legrand, 1956) est un crustacé isopode des milieux aquatiques souterrains (espèce stygobie) endémique du centre-ouest de la France. Une étude globale de la faune stygobie *via* des prospections des différents points d'accès aux habitats souterrains a été effectuée en Poitou-Charentes. Cela a permis d'affiner la répartition de la Gallaselle dans cette région par l'ajout de 12 nouveaux sites. L'analyse des préférences écologiques de la Gallaselle a montré que cette dernière est peu sensible aux nitrates. Concernant les autres données physico-chimiques, la Gallaselle ne semble pas être répartie selon ces paramètres mais la poursuite de l'étude permettra d'affiner ces résultats. L'étude de la biologie de la Gallaselle montre un sex-ratio biaisé en faveur des femelles. Ceci n'a pas pu être expliqué par la présence de la bactérie féminisante *Wolbachia*. Un deuxième axe de recherche a consisté à déterminer le régime alimentaire par deux méthodes (élevages expérimentaux et analyses isotopiques). L'alliance de ces deux méthodes suggère que le régime alimentaire serait constitué de matière organique (feuilles et bois morts) prédigérée par du biofilm. La proposition d'une zone de protection aux Roches-Prémarie-Andillé par un Arrêté Préfectoral de Biotope s'est basée sur l'ensemble des résultats apportés par cette étude en réponse à une demande de la SCAP.

Mots Clés : *Gallasellus* - Faune stygobie – Poitou-Charentes – Régime alimentaire - Conservation

Abstract

The Gallaselle is a groundwater crustacean stygobic species, endemic to central-western France. First, the stygofauna have been studied by prospections on different access points to the groundwater in Poitou-Charentes. This revealed 12 new sites where the Gallaselle is present in this region. The analysis of the Gallaselle ecological preferences suggested it is not sensitive to nitrates. Regarding the other physico-chemical parameters, no clear relationship has yet been demonstrated. The pursuit of the study should refine those results. The sex-ratio biased in favour the females is not explained by *Wolbachia bacteria*. The second axe research topic aimed to determine the Gallaselle diet by two complementary approaches (experimental rearing and isotopic analyses). The two methods altogether suggests that the diet could be based on organic matters (dead leaves and woods) pre-digested by biofilms. A proposition of a protection zone in Les Roches-Prémarie-Andillé by a biotope prefectorial decree (APB in French) was based on the obtained results to answer a national ministerial demand.

Key-words : *Gallasellus* – Stygofauna – Poitou-Charentes – Diet - Conservation