



Equipe Ecotoxicologie et Qualité des Milieux Aquatiques
UMR0985 INRA-Agrocampus Ouest *Ecologie et Santé des Ecosystèmes*,
65 rue de Saint-Brieuc - 35042 RENNES CEDEX

Evaluation à long terme des effets non-intentionnels de la démoustication dans les zones humides littorales du Morbihan

Suivi de l'état des communautés d'invertébrés aquatiques non-cibles
exposées au Vectobac® WG dans la station de Local-Mendon
sur la période 2006-2011



Rapport d'étude

Septembre 2011

Etude réalisée par :

Marc Roucaute (coordinateur technique),
Pierre Le Goff, Ana Roucaute, Yolande Gautier, Marie-Aude Liger

sous la coordination scientifique de :

Laurent Lagadic et Thierry Caquet

INRA

Equipe Ecotoxicologie et Qualité des Milieux Aquatiques
UMR INRA-Agrocampus 985, Ecologie et Santé des Ecosystèmes,
65 rue de Saint-Brieuc - 35042 RENNES CEDEX

**Evaluation à long terme des effets non-intentionnels
de la démoustication dans les zones humides littorales
du Morbihan**

Suivi de l'état des communautés d'invertébrés aquatiques non-cibles
exposées au Vectobac® WG dans la station de Local-Mendon
sur la période 2006-2011

Etude réalisée pour le compte de :

l'EID-Atlantique,

Etablissement Interdépartemental de Démoustication du littoral atlantique

Rapport d'étude

Septembre 2011

1. Introduction

Depuis 1998, à la demande du Conseil Général du Morbihan, relayée par l'ODEM, l'équipe *Ecotoxicologie et Qualité des Milieux Aquatiques* de l'INRA de Rennes assure le suivi à long terme de l'impact potentiel des traitements de démoustication sur les communautés d'invertébrés aquatiques dans les zones humides littorales de ce département. Ce programme s'est déroulé selon différentes phases successives afin de s'adapter au mieux à l'évolution des interventions de l'EID-Atlantique.

La première phase de ce programme (1998-2001) a consisté à mettre au point, à tester et à valider *in situ* des méthodes d'évaluation des effets des insecticides de démoustication à la fois sur des espèces-sentinelles (chironome et néréis) et sur l'ensemble de la communauté d'invertébrés partageant les mêmes milieux de vie que les larves de moustiques. Ce travail, réalisé dans les secteurs-pilotes "Rivière de Pénerf" (station d'Ambon) et "Rivière d'Étel" (station de Locoal-Mendon), a donné lieu à un rapport¹ dans lequel étaient décrits les protocoles de suivi. En outre, les conclusions de ce rapport indiquaient que les larvicides employés (Abate® 500e à base de téméphos et VectoBac® 12AS, formulation liquide du *Bacillus thuringiensis israelensis* – *Bti*) ne présentaient pas de risque élevé pour les invertébrés aquatiques non-cibles inféodés aux zones humides littorales, mais recommandaient néanmoins de privilégier l'usage du Vectobac®. Ces conclusions, reprises dans l'avis du Conseil Scientifique de l'ODEM du 26 mai 2002, ne s'appliquaient bien évidemment qu'aux conditions dans lesquelles la démoustication est pratiquée par l'EID-Atlantique dans les secteurs-pilotes du Morbihan, leur validité étant remise en cause si les pratiques de démoustication devaient être modifiées, en particulier (1) si des substances actives ou des formulations différentes de celles utilisées sur la période 1998-2001 devaient être employées et (2) si les surfaces traitées étaient étendues, le recours à des méthodes de lutte à grande échelle pouvant avoir des conséquences que ne permettent pas nécessairement d'évaluer les études d'impact réalisées sur des secteurs restreints, d'autant plus que les nouveaux secteurs peuvent présenter des caractéristiques écologiques différentes de celles des milieux étudiés jusqu'à présent.

Le premier cas de figure (substitution de formulations) s'est produit en 2006, année au cours de laquelle l'EID-Atlantique a commencé à utiliser une formulation du *Bti* en microgranulés dispersibles (Vectobac® WG) différente de la formulation liquide (Vectobac® 12AS). Conformément aux recommandations du rapport d'avril 2002, l'impact potentiel du Vectobac® WG sur les communautés d'invertébrés aquatiques a été évalué sur deux années (2006-2007) dans la station de Locoal-Mendon, qui avait fait l'objet d'un suivi sur la période 1998-2001. Les résultats obtenus montrent que le Vectobac® WG ne présente pas plus d'effet que le Vectobac® 12AS, et que la substitution des deux produits ne serait donc pas de nature à accroître les risques de la démoustication pour les invertébrés aquatiques non-cibles inféodés aux zones humides littorales². Ces résultats ont fait l'objet d'une publication dans une revue scientifique internationale à comité d'évaluation³.

Il est à noter que, suite à l'interdiction d'usage du téméphos en 2006, le VectoBac® est désormais le seul produit utilisé pour lutter contre les larves de moustiques dans le Morbihan. Ce passage au "tout *Bti*" n'est pas propre au contexte morbihannais puisque l'interdiction du téméphos résulte de la mise en application d'une directive européenne.

Le second cas de figure (extension des secteurs de démoustication) s'est produit à partir de 2008, dans la mesure où des demandes d'interventions avaient été formulées par de nouvelles communes. Cette situation correspond typiquement à l'une des conditions énoncées dans le rapport d'avril 2002 comme nécessitant une réévaluation de l'impact des traitements de démoustication. Pour ce faire,

¹ Lagadic L., Caquet Th., Fourcy D. & Heydorff M., 2002. Évaluation à long terme des effets de la démoustication dans le Morbihan. Suivi de l'impact écotoxicologique des traitements sur les invertébrés aquatiques entre 1998 et 2001. *Rapport scientifique de fin de programme, Conseil Général du Morbihan, Avril 2002, 215 pages.*

² Le Goff P., Roucaute M., Lagadic L. & Caquet Th., 2009. Évaluation à long terme des effets de la démoustication dans le Morbihan. Suivi de l'impact écotoxicologique d'une nouvelle formulation de larvicide sur les invertébrés aquatiques : étude comparative entre Vectobac® WG et Vectobac® 12AS. *Rapport de fin d'étude, Conseil Général du Morbihan, Mars 2009, 26 pages.*

³ Caquet Th., Roucaute M., Le Goff P. & Lagadic L., 2011. Effects of repeated field applications of two formulations of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on non-target saltmarsh invertebrates in Atlantic coastal wetlands. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74, 1122.-1130.

une phase de prospection, qui a principalement consisté à évaluer la composition des communautés d'invertébrés aquatiques, a été entreprise dans les secteurs où étaient envisagées de nouvelles interventions de démoustication, à savoir les communes de Locmariaquer, Penestin, Camoël, Theix et Séné. Les résultats obtenus ont permis de retenir la station de Locmariaquer comme nouvelle station de suivi dans le cadre de l'extension des secteurs de démoustication⁴. La station de Locoal-Mendon, où les agents de l'EID-Atlantique prennent soin de préserver une parcelle témoin, exempte de tout traitement, délimitée en 1997, reste la station de référence pour la surveillance écologique à long terme (tel que préconisé dans l'avis du Conseil Scientifique de l'ODEM du 26 mai 2002).

Depuis 2008, le suivi des impacts potentiels des traitements anti-larvaires a donc été réalisé dans les stations de Locoal-Mendon et de Locmariaquer. Dans ces deux stations, compte tenu des réflexions en cours sur l'évaluation des effets potentiels de la démoustication sur les espèces ayant justifié la désignation des ZPS (Cf. Arrêté préfectoral du 5 avril 2007 portant délimitation des zones de lutte contre les moustiques et Réunion du 10 mai 2007 à l'ODEM), une attention particulière a été portée aux invertébrés représentant une ressource trophique d'intérêt pour l'avifaune.

Au regard des résultats obtenus durant ces trois dernières années, il s'est avéré que la station de Locmariaquer n'offrait plus les conditions optimales pour assurer, de façon fiable, le suivi des effets non-intentionnels potentiels des traitements de démoustication. En effet, depuis le démarrage du suivi dans cette station, l'occurrence d'une année très sèche (2009) couplée à une modification de la gestion hydraulique du marais suite aux travaux de réaménagement entrepris sur la digue a conduit à des altérations profondes des caractéristiques environnementales dans cette station. A certaines périodes, les conditions qui y règnent sont davantage celles d'un milieu d'eau douce que celles des milieux typiques des secteurs démoustiqués. En raison du très faible nombre de traitements qui y sont pratiqués, cette station n'est plus représentative des secteurs d'intervention de l'EID Atlantique dans le Morbihan. Aussi a-t-il été décidé, lors de la réunion du Comité de Suivi de la démoustication du 25 novembre 2010, de ne pas poursuivre le suivi dans la station de Locmariaquer.

Le présent rapport d'étude regroupe l'ensemble des résultats du suivi des effets non intentionnels potentiels du VectoBac® WG sur les communautés d'invertébrés aquatiques non cibles, réalisé sur la période 2006-2011 dans la station de Locoal-Mendon. Le fait de disposer d'un tel jeu de données, collectées pendant 6 années consécutives, est extrêmement rare dans le contexte du suivi de l'impact potentiel des produits de démoustication, quels que soient les organismes considérés. A notre connaissance, seules deux autres études, portant sur les effets non intentionnels du VectoBac® G, ont été réalisées sur une durée identique (6 ans), dans les zones humides du Minnesota (USA)^{5,6} d'une part et dans la plaine inondable de la Dalälven (Suède)^{7,8} d'autre part. Il est essentiel de noter que, compte tenu de la très forte variabilité des conditions environnementales dans les zones humides, aucune conclusion valable sur les effets non intentionnels du *Bti* ne peut être tirée d'études réalisées sur de plus courtes durées. Dans le cas précis des impacts des traitements de démoustication, ces deux études ont conduit à des résultats opposés. L'étude réalisée dans le Minnesota a mis en évidence le fait que le VectoBac® G (dosage : 5,9 à 17,2 kg/ha) provoquait une diminution significative de l'abondance de certains taxons d'invertébrés non-cibles, notamment les Diptères Nématocères ; en outre, une baisse de la richesse taxonomique des insectes et une augmentation des indices de dominance ont été observées^{6,7}. Au contraire, l'étude menée en Suède a montré que le VectoBac® G (dosage : 13-15 kg/ha) n'avait aucun effet sur la production d'insectes émergents⁸, ni sur la richesse spécifique des chironomes⁹.

⁴ Roucaute M., Lagadic L. & Caquet Th., 2008. Évaluation à long terme des effets de la démoustication dans le Morbihan. Recherche de sites d'intérêt dans les secteurs identifiés pour l'extension des zones de démoustication du Morbihan. *Rapport de fin d'étude, EID-Atlantique, Janvier 2008, 27 pages.*

⁵ Hershey A.E., Lima A.R., Niemi G.J. & Regal R.R., 1998. Effects of *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*) and methoprene on non-target macroinvertebrates in Minnesota wetlands. *Ecological Applications*, 8, 41-60.

⁶ Niemi G.J., Hershey A.E., Shannon L., Hanowski J.M., Lima A., Axler R.P. & Regal R.R., 1999. Ecological effects of mosquito control on zooplankton, insects, and birds. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18, 549-559.

⁷ Persson Vinnersten T.Z., Lundström J.O., Schäfer M.L., Petersson E. & Landin J. 2010. A six-year study of insect emergence from temporary flooded wetlands in central Sweden, with and without *Bti*-based mosquito control. *Bulletin of Entomological Research*, 100, 715-725.

⁸ Lundström J.O., Schäfer M.L., Petersson E., Persson Vinnersten T.Z., Landin J. & Brodin Y., 2010. Production of wetland Chironomidae (Diptera) and the effects of using *Bacillus thuringiensis israelensis* for mosquito control. *Bulletin of Entomological Research*, 100, 117-125.

De tels résultats, apparemment contradictoires, montrent en réalité que, pour une même formulation, en l'occurrence la formulation G (Granulés), les effets non-intentionnels du VectoBac[®] sont dépendants des conditions écologiques au sens large, c'est-à-dire du type de communautés en présence et des caractéristiques environnementales des milieux. Par conséquent, il n'est pas concevable d'extrapoler les résultats obtenus dans un site donné à tout autre site, même si les conditions écologiques semblent comparables. *A fortiori*, cette démarche d'extrapolation est à proscrire lorsque les sites sont écologiquement différents, ou lorsque les formulations d'une même substance active sont différentes.

Le suivi réalisé à Locoal-Mendon, sur les effets non-intentionnels du VectoBac[®] WG (granulés dispersibles dans l'eau) sur les communautés d'invertébrés aquatiques non-cibles, entre désormais dans le cadre d'un suivi à plus large échelle puisqu'en février 2011, une prospection a été réalisée sur l'ensemble des départements où intervient l'EID-Atlantique, afin de caractériser la typologie dominante des milieux traités et d'y localiser les stations faisant l'objet, à partir de 2011, d'une évaluation des incidences Natura 2000, conformément au décret n°2010-368 du 9 avril 2010, publié au Journal Officiel du 11 avril 2010⁹.

Le protocole mis en œuvre à Locoal-Mendon, comme dans toutes les autres secteurs d'intervention de l'EID Atlantique, est le même que celui utilisé antérieurement^{2,3} (Fig. 1). Il est basé sur la comparaison de la composition des communautés d'invertébrés aquatiques non-cibles entre zone traitée et zone témoin. Simultanément, à chaque date de prélèvement, divers paramètres environnementaux sont mesurés afin de caractériser les zones traitée et témoin, et de comparer l'influence relative de chacun des facteurs naturels du milieu et de la présence de VectoBac[®] WG.

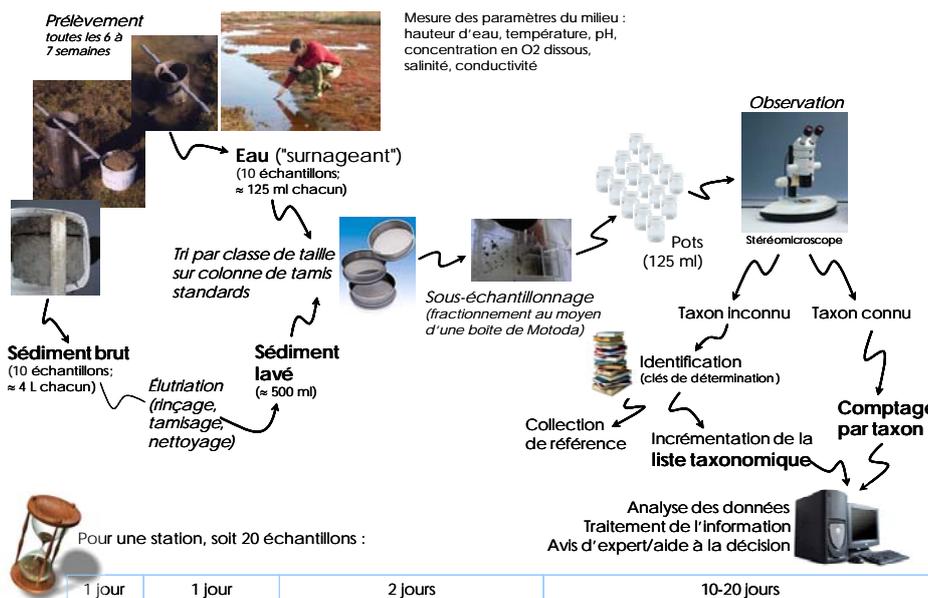


Figure 1. Représentation schématique des différentes étapes du protocole de suivi des communautés d'invertébrés aquatiques dans la station de Locoal-Mendon (Morbihan).

A partir de l'année 2010, afin d'alléger le suivi et de le rendre compatible, en termes de délai d'obtention des résultats, avec une biosurveillance à long terme, le nombre de campagnes (dates) de prélèvements a été réduit, en ciblant deux périodes critiques de la dynamique des communautés d'invertébrés, à savoir printemps et automne, la période estivale correspondant le plus souvent à une période d'assèchement des milieux. Dans ces conditions, l'analyse complète des prélèvements d'une campagne sur le site de Locoal-Mendon nécessite entre un et deux mois.

⁹ Roucaute M., Liger M.-A., Gautier Y., Roucaute A., Lagadic L. & Caquet, Th., 2011, Evaluation à long terme des effets non intentionnels de la démoustication dans les secteurs d'intervention de l'EID-Atlantique. Suivi de l'impact écotoxicologique potentiel du VectoBac[®] WG sur les invertébrés aquatiques non-cibles dans les habitats prioritaires des départements Morbihan, Loire-Atlantique, Vendée, Gironde et Charente-Maritime. Résultats de l'étude préliminaire réalisée en 2011. *Rapport d'étude, Septembre 2011, 26 p.*

2. Matériels et méthodes

2.1. Description de la station de Locoal-Mendon

Lors des études réalisées de 1998 à 2001 sur l'évaluation des risques écotoxicologiques de la démoustication pour les zones humides morbihannaises, 3 stations pilotes avaient été identifiées¹⁷. Ce choix répondait à plusieurs conditions. Les stations devaient être riches en gîtes larvaires de *Culicidae* et être représentatives des zones humides littorales du Morbihan. La station retenue pour cette étude, située sur le territoire de la commune de Locoal-Mendon (Fig. 2), est localisée dans le secteur-pilote de la rivière d'Etel. Elle s'étend sur une surface d'environ 1 ha, et correspond à un ancien marais salant, où les gîtes larvaires se présentent sous la forme de microflaques ou de mares d'une surface comprise entre 10 et 30 m², sous forte influence maritime. Cette influence se traduit par une remise en eau à partir de grandes marées de coefficients supérieurs ou égaux à 90.



Figure 2. Vue générale de la station de Locoal-Mendon et des mares qui ont fait l'objet du suivi sur la période 2006-2011.

Dans cette station, deux zones, contenant chacune 5 mares, ont été délimitées : une zone témoin où aucun traitement n'a jamais été réalisé depuis le début des opérations de démoustication (zone témoin depuis 1998²) et une zone dans laquelle les traitements de démoustication ont été réalisés par application de Vectobac® WG (traitements commencés en 2006 lors de la précédente étude de comparaison de l'impact de deux formulations du VectoBac^{3,4}). Afin d'optimiser la comparaison des divers paramètres mesurés entre les différents groupes de mares, celles-ci ont été sélectionnées au début de l'étude de sorte qu'il y ait le moins de différences physiques entre elles.

2.2. Larvicide utilisé

L'insecticide utilisé correspond à la formulation en granulés dispersibles dans l'eau (VectoBac® WG) d'une substance active issue d'une bactérie Gram+ appartenant à la famille des Bacillaceae : *Bacillus thuringiensis israelensis (Bti)* ser. H14. L'intérêt de cette formulation par rapport à la formulation liquide (VectoBac® 12AS) utilisée jusqu'en 2006 est essentiellement d'ordre pratique. En effet, elle est plus concentrée, ce qui permet d'accroître la quantité transportable et rendre ainsi plus efficace la prospection à pied menée par les agents de l'EID-Atlantique.

La toxicité du *Bti* pour les larves de moustiques est liée à la formation d'un cristal protéique lors de la sporulation^{10,11}. Son efficacité vis-à-vis des espèces cibles de *Culicidae* est comparable à celle des insecticides organophosphorés^{12,13}. Cependant, le *Bti* présente, par rapport aux insecticides de

¹⁰ Schnepf E., Crickmore N., Van Rie J., Lereclus D., Baum J., Feitelson J., Zeigler D.R. & Dean D.H., 1998. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **62**, 775-806.

¹¹ Crickmore N., Zeigler D.R., Feitelson J., Schnepf E., Van Rie J., Lereclus D., Baum J. & Dean D.H., 1998. Revision of the nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* pesticidal crystal proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **62**, 807-813.

¹² Sinègre G., Vigo G., Gaven B. & Jullien J.L., 1980. Activité larvicide immédiate et action rémanente de l'endotoxine du serotype H-14 de *Bacillus thuringiensis* dans deux biotopes à moustiques du littoral méditerranéen français. *Parasitologia*, **22**, 213-221.

synthèse, trois principaux avantages, qui font de lui le larvicide dont le profil écotoxicologique est, de loin, le plus favorable :

(1) Son mode d'action le rend hautement spécifique d'un groupe d'insectes, en l'occurrence les diptères nématocères¹⁴, et plus particulièrement les *Simuliidae*, *Chironomidae* et *Culicidae*, groupe auquel appartiennent les moustiques. La toxicité du *Bti* s'exprime au travers d'un groupe de 4 protéines toxiques (Cry4A, Cry4B, Cry11A et Cyt1A) ayant chacune un récepteur spécifique. Suite à l'ingestion du cristal protéique par les larves de moustiques, ces toxines sont libérées dans le tube digestif et vont se fixer à des récepteurs spécifiques, sur la membrane des cellules de l'épithélium intestinal¹⁵. S'ensuit alors une modification de la perméabilité de la membrane, entraînant la lyse des cellules de l'intestin, à l'origine de la mort de l'individu^{16,17}. Des récepteurs aux toxines du *Bti* ont également été identifiés sur la membrane de cellules de l'épithélium intestinal d'espèces d'invertébrés autres que les moustiques, plus précisément des chironomes (*Chironomus annularius*), des simulies (*Simulium variegatum*) et des crustacés cladocères (*Simocephalus vetulus*)¹⁸. Cependant, la fixation des toxines du *Bti* sur les récepteurs de crustacés cladocères n'entraîne aucune mortalité, alors qu'elle se traduit par un effet léthal chez les diptères nématocères, confirmant ainsi la haute spécificité du larvicide pour ces derniers.

(2) L'apparition d'une résistance chez les espèces cibles est très peu probable¹⁹. Il faut toutefois souligner qu'un premier cas de résistance a été signalé en 2003 à Syracuse dans l'Etat de New York (USA) chez *Culex pipiens*, espèce cosmopolite et plurivoltine, suite à des traitements répétés sur une période relativement courte, entre 1998 et 2001²⁰. Des travaux récents ont effectivement montré qu'il était possible, en laboratoire, de créer artificiellement une résistance à trois des quatre toxines du *Bti* (Cry4A, Cry4B et Cry11A) chez *Aedes aegypti*. La sélection de cette souche résistante a été obtenue au bout de 22 générations continuellement exposées au *Bti*²¹, ce qui ne reflète en aucun cas la situation d'exposition des larves de moustiques dans les zones humides littorales du Morbihan et, d'une manière plus générale, dans l'ensemble des secteurs d'intervention de l'EID-Atlantique. De plus, les travaux les plus récents montrent que la résistance au *Bti* a peu de chance de se développer chez les espèces de moustiques des régions tempérées où la partie du cycle de vie passée à l'état d'œuf est suffisamment longue pour contre-sélectionner d'éventuels allèles de résistance²².

(3) Le *Bti* est très peu rémanent dans l'eau et les sédiments, et son effet larvicide se dissipe au delà de 24 à 48 heures après l'application²³. Des études récentes ont cependant montré que les spores du *Bti* présentaient une viabilité plus importante dans les milieux aquatiques où s'accumulent les feuilles mortes, même si ces milieux ne sont pas l'objet de traitements de démoustication²⁴, le *Bti* étant naturellement présent dans les sols et sédiments. L'absence de feuilles mortes en décomposition dans les zones humides littorales du Morbihan garantit l'absence de rémanence du *Bti* dans ces milieux.

¹³ Sinègre G., Gaven B., Jullien J.L. & Crespo O., 1980. Activité du sérotype H-14 de *Bacillus thuringiensis* vis-à-vis des principales espèces de moustiques anthropophiles du littoral méditerranéen français. *Parasitologia*, **22**, 223-230.

¹⁴ Boisvert M. & Boisvert J., 2000. Effects of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on target and non target organisms: a review of laboratory and field experiments. *Biocontrol Science and Technology*, **10**, 517-561.

¹⁵ Bravo A., Gill S.S. & Soberon M., 2007. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. *Toxicon*, **49**, 423-435.

¹⁶ van Frankenhuyzen K., 1993. The challenge of *Bacillus thuringiensis*. In: Entwistle P.F.J., Cory S., Bailey M.J., Higgs S. (Eds.), *Bacillus thuringiensis*, an Environmental Biopesticide: Theory and Practice. John Wiley & Sons, pp. 1-35.

¹⁷ Knowles B.H., 1994. Mechanism of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal delta-endotoxins. *Advances in Insect Physiology*, **24**, 275-308.

¹⁸ Rey D., Long A., Pautou M.-P. & Meyran J.-C., 1998. Comparative histopathology of some Diptera and Crustacea of aquatic alpine ecosystems, after treatment with *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **88**, 255-263.

¹⁹ Ferré J. & Van Rie J., 2002. Biochemistry and genetics of insect resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annu. Rev. Entomol.*, **47**, 501-533.

²⁰ Ayesa P., Harrington L.C., Zhang L. & Scott J.G., 2005. Insecticide resistance in *Culex pipiens* from New York. *Journal of the American Mosquito Control Association*, **21**, 305-309.

²¹ Paris M., Tetreau G., Laurent F., Lelu M., Despres L. & David J.P., 2011. Persistence of *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*) in the environment induces resistance to multiple *Bti* toxins in mosquitoes. *Pest Management Science*, **67**, 122-128.

²² Paris M., David J.P. & Despres L., 2011. Fitness costs of resistance to *Bti* toxins in the dengue vector *Aedes aegypti*. *Ecotoxicology*, **20**, 1184-1194.

²³ Hajaj M., Carron A., Deleuze J., Gaven B., Setier-Rio M.-L., Vigo G., Thiéry I., Nielsen-LeRoux C., & Lagneau C., 2005. Low persistence of *Bacillus thuringiensis* serovar *israelensis* spores in four mosquito biotopes of a salt marsh in southern France. *Microbial Ecology*, **50**, 475-487.

²⁴ Tilquin M., Paris M., Reynaud S., Despres L., Ravanel P. & Geremia R., 2008. Long lasting persistence of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* (*Bti*) in mosquito natural habitats. *PLoS ONE* 3:e3432

2.3. Traitements de démoustication

Les traitements sont réalisés par les agents de l'EID-Atlantique. Le larvicide est appliqué à la surface de l'eau des mares à l'aide d'un pulvérisateur à dos. La dose utilisée était de 300 g de Vectobac® WG par hectare (soit $337 \cdot 10^6$ UTI/ha) jusqu'à fin juin ; à partir de juillet, sur la base des tests d'efficacité réalisés par l'EID-Atlantique²⁵, la dose a été réduite à 220 g/ha (soit $245 \cdot 10^6$ UTI/ha).

Les dates d'intervention de l'EID-Atlantique au cours de l'année 2011, ainsi que les campagnes d'échantillonnage de la faune (état d'avancement en Août 2011) sont présentées sur la figure 3.

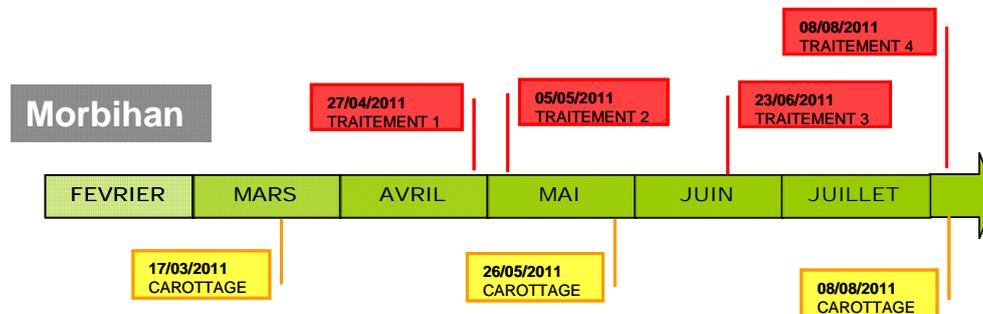


Figure 3. Chronologie des interventions de démoustication et des prélèvements de faune (Carottage) dans le site de Locoal-Mendon en 2011.

2.4. Déroulement du suivi

2.4.1. Caractérisation environnementale des mares

Plusieurs paramètres physico-chimiques ont été mesurés dans les mares lors de chacune des campagnes d'échantillonnage afin de les caractériser d'un point de vue environnemental.

La hauteur d'eau a été mesurée à l'aide d'un réglelet en aluminium (précision 1 mm). La température, le pH, la salinité, la concentration en oxygène dissous ont été mesurés directement sur le terrain avec des appareils de mesure portatifs munis de sondes adaptées : boîtier multiparamètres pH-mètre-conductimètre WTW 340i équipé d'une électrode de pH SenTix 41.3 pour le pH et d'une sonde TetraCon 325 pour la conductivité/salinité ; boîtier multiparamètres Hach HQ30D et sonde LDO pour la concentration en oxygène dissous. Ces trois appareils étaient également équipés d'une sonde intégrée permettant de mesurer la température de l'eau. La moyenne de ces 3 mesures a été calculée afin d'obtenir une valeur unique de température.

2.4.2. Prélèvements de faune invertébrée non-cible (Fig. 1)

Les prélèvements ont été réalisés par carottage à l'aide d'un carottier en acier inoxydable (diamètre intérieur : 16,5 cm, hauteur des carottes : environ 10 cm). A chaque date d'échantillonnage, un prélèvement a été réalisé dans chacune des 5 mares des zones traitée et témoin. Le point de carottage étant choisi au hasard au sein de chaque mare.

Une fois le carottier mis en place, la faune présente dans la colonne d'eau ("surnageant") a été directement collectée sur un tamis de 0,25 mm de vide de maille, puis transférée dans un flacon en polystyrène de 250 mL. La carotte a ensuite été placée dans une barquette en plastique de 4 L. La partie la plus profonde de chaque carotte a été directement fragmentée sur le terrain pour en extraire les Néreis (seuls organismes présents dans cette strate) et alléger ainsi le volume d'échantillon. Les deux fractions ont ensuite été formolées (10% ; pH neutre ; additionné de rose bengal à 1mg/l) afin de fixer les organismes avant le tri des échantillons.

²⁵ Chouin S., Le Hunsec B., Thibaud L., de Maupeou J., Roucaute M., Caquet Th. & Lagadic L., 2011. Risk assessment and mitigation of Vectobac® WG used for larval mosquito control in wetlands of the French Atlantic coast. *EMCA 2011 – 6th European Mosquito Control Association Workshop*, 12-14 September 2011, Budapest.

2.4.3. Préparation des échantillons pour la détermination de la faune (Fig. 1)

2.4.3.1. Pré-traitement des échantillons

Afin de permettre le tri et l'identification des invertébrés, les carottes ont subi un premier traitement destiné à éliminer, autant que possible, les sédiments et les débris végétaux. Chaque carotte a été lavée sur deux tamis successifs de 8 et 0,5 mm de vide de maille pour éliminer les plus gros déchets végétaux et les sédiments. Afin de faciliter la dispersion des argiles compactes qui les constituent, les carottes ont été au préalable fragmentées manuellement et immergées durant une trentaine de minutes dans une solution d'hexamétophosphate de sodium ((NaPO₃)_n, 1 g/L).

Un deuxième traitement, commun à tous les types d'échantillons (surnageants et carottes après prétraitement) a consisté en un passage sur une colonne de tamis :

- vides de maille successifs de 8, 4, 2, 1 et 0,5 mm pour les carottes,
- vides de maille de 8, 4, 2, 1, 0,5 et 0,25 mm pour les surnageants.

L'objectif était de séparer les individus présents dans les échantillons selon leur taille, ce qui facilite le tri et le dénombrement car il est alors possible de régler la loupe binoculaire sur un niveau de grossissement défini et constant en étant sûr de pouvoir observer tous les individus présents dans l'échantillon à la bonne échelle.

2.4.3.2. Sous-échantillonnage

Compte tenu de la densité en invertébrés ou de la charge en matières organiques fines dans certains prélèvements, un protocole de sous-échantillonnage permettant de diviser l'échantillon initial en plusieurs fractions de volumes identiques a été mis en œuvre. Le tri a alors été effectué sur une partie seulement des fractions, ce qui le rend plus rapide et plus efficace. Seule la moitié du contenu des tamis de 1 mm a été identifiée et comptée, le quart pour les tamis de 0,5mm et un huitième pour les tamis de 0,25 mm.

Le fractionnement des échantillons a été réalisé à l'aide d'une boîte de Motoda. Il s'agit d'une boîte parallélépipédique en plexiglas (24 cm de longueur et 11 cm de largeur) pourvue d'une cloison centrale sur la moitié de sa longueur. Elle permet, par un mouvement de bascule, de diviser un échantillon en deux parts égales. Une bonne homogénéisation préalable de l'échantillon, lequel doit être suffisamment liquide, est essentielle au bon déroulement du sous-échantillonnage.

2.4.4. Tri et détermination des invertébrés (Fig. 1)

L'identification et le dénombrement des individus ont été effectués avec une loupe binoculaire. La détermination taxonomique a été réalisée en se référant à des ouvrages généraux^{26,27,28} et spécialisés pour certains groupes (Gammaridae²⁹, Crustacés Isopodes³⁰, crevettes³¹).

Pour les années 2008, 2009 et 2010, compte tenu de la charge de travail supplémentaire induite par le suivi de la station de Locmariaquer et afin de pouvoir comparer les résultats obtenus dans cette station avec ceux de la station de Locoal-Mendon, le nombre de dates pour lesquelles tous les échantillons ont été triés a été réduit. Seuls les échantillons des dates pour lesquelles à la fois la station de Locoal-Mendon et celle de Locmariaquer avaient été échantillonnés ont été analysés. Sur cette période, le nombre de dates du suivi annuel est donc inférieur à celui des périodes précédentes (2006 et 2007) et actuelles (2011). Toutefois, les échantillons de la station de Locoal-Mendon qui n'ont pas encore été traités sont conservés dans des conditions permettant leur analyse ultérieure. Ce travail pourrait être effectué s'il s'avérait que des variations susceptibles de traduire d'éventuels effets du VectoBac® nécessitent de compléter le jeu de données afin d'affiner l'analyse des résultats.

²⁶ Tachet H., Bournaud M., Richoux Ph. & Usseglio-Polatera Ph. (eds), 2000. *Invertébrés d'eau douce : systématique, biologie, écologie*. CNRS éditions, Paris.

²⁷ Barnes R.S.K., 1994. *The Brackish-water Fauna of Northwestern Europe*. Cambridge University Press, Cambridge.

²⁸ Hayward P.J. & Ryland J.S. (eds), 1995. *Handbook of the Marine Fauna of North-West Europe*. Oxford University Press, Oxford.

²⁹ Lincoln R.J., 1979. *British Marine Amphipoda: Gammaridae*. British Museum, London.

³⁰ Naylor E., 1972. *British Marine Isopods. Synopses of the British fauna (New Series) n°3*. Academic Press, London.

³¹ Smalton G., 1979. *British Coastal Shrimps and Prawns. Synopses of the British Fauna (New Series) n°15*. Academic Press, London.

2.5. Traitement des données

2.5.1. Paramètres physico-chimiques

Les résultats obtenus pour les différents paramètres physico-chimiques ont été regroupés sous la forme de diagrammes « radar » dont chaque axe représente un paramètre.

2.5.2. Abondance de groupes taxonomiques d'intérêt

Certains des groupes taxonomiques identifiés dans les échantillons présentent un intérêt particulier car ils constituent une ressource alimentaire importante pour de nombreuses espèces d'oiseaux qui fréquentent les zones humides littorales du Morbihan. C'est notamment le cas des néréis, de *Corophium volutator*, des *Hydrobiidae* et des larves de *Chironomidae* dont les effectifs, ont fait l'objet d'une analyse plus détaillée, basée sur la comparaison de l'abondance moyenne de chaque groupe dans les zones témoin et traitée pour chaque date d'échantillonnage.

2.5.3. Caractérisation de la structure des communautés

Les groupes qui ont été rencontrés dans moins de 6 échantillons sur l'ensemble des 6 années du suivi (soit moins de 2,5 % des échantillons) n'ont pas été pris en compte dans les analyses afin de ne pas donner trop d'importance aux groupes accidentels.

Les données d'abondance pour les 2 fractions de chaque échantillon (surnageant et carotte) ont été regroupées, de manière à disposer d'une valeur d'abondance pour chaque groupe dans chaque mare et à chaque date d'échantillonnage. Les abondances des groupes spécifiques de la colonne d'eau (Copépodes, Ostracodes, adultes et larves de *Palaemonidae*, Hydracariens) ont été ramenées à un nombre d'individus par centimètre cube d'eau en estimant le volume d'eau présent dans le carottier au moment du prélèvement à partir de la mesure de la hauteur d'eau correspondante. Ceci permet de tenir compte de l'influence d'une différence éventuelle de hauteur d'eau entre les mares. Parallèlement, l'abondance des taxons benthiques a été ramenée à une abondance par centimètre carré de substrat échantillonné.

La structure des communautés d'invertébrés dans les mares des différentes zones a été caractérisée par différents indices numériques :

- N , l'abondance totale, correspond au nombre total d'invertébrés dénombrés dans un échantillon.
- S , la richesse taxonomique, qui correspond au nombre total de groupes taxonomiques identifiés dans un échantillon.
- H' , l'indice de diversité de Shannon, dont la valeur est d'autant plus élevée que les groupes taxonomiques présents dans l'échantillon sont plus nombreux, et que la répartition des individus entre ces groupes taxonomiques est équilibrée. Sa formule est la suivante :

$$H' = - \sum_{i=1}^S \left(\left(\frac{n_i}{N} \right) \times \ln \left(\frac{n_i}{N} \right) \right)$$

où S est la richesse taxonomique, n_i le nombre d'individus du groupe taxonomique i et N l'abondance totale des invertébrés dans l'échantillon.

- J , l'indice d'équitabilité de Pielou, dont la valeur est d'autant plus élevée et proche de 1 que la répartition des individus entre les différents groupes taxonomiques est plus équilibrée. Sa formule est la suivante :

$$J = \frac{H'}{\log_2(S)}$$

où H' est l'indice de diversité de Shannon calculé pour l'échantillon, et S est sa richesse taxonomique.

Pour chaque zone, des valeurs moyennes des différents indices décrits ci-dessus ont été calculées à chaque date d'échantillonnage à partir des valeurs obtenues pour chacune des mares.

La similarité des communautés au sein de chaque zone et entre les deux zones a été calculée à l'aide de l'indice de Bray-Curtis, en appliquant aux données d'abondance la transformation $x' = x^{0.25}$:

$$d_{BC}(i, j) = 100 \times \left[1 - \frac{\sum_{k=1}^S |n_{i,k} - n_{j,k}|}{\sum_{k=1}^S (n_{i,k} + n_{j,k})} \right]$$

où i et j sont deux échantillons, n_k est l'abondance du groupe taxonomique k et S est la richesse taxonomique. Cet indice varie de 0 (aucune similarité) à 100 % (compositions identiques en termes de groupes taxonomiques et d'abondance des groupes taxonomiques).

Les différents indices ont été calculés à l'aide du logiciel PAST version 2.11³².

2.5.4. Analyses statistiques

Pour tous les paramètres physico-chimiques mesurés au cours de cette étude, la comparaison des moyennes calculées pour les zones témoin et traitée à chaque date d'échantillonnage a été réalisée à l'aide d'une analyse de variance à un facteur (ANOVA), afin de savoir s'il existait ou non une différence significative entre ces deux zones.

Les données obtenues pour l'indice de diversité de Shannon et pour l'indice de Piélu ont été analysées par ANOVA. En ce qui concerne la richesse taxonomique (S), l'abondance totale des invertébrés (N) et l'abondance de différents groupes taxonomiques, la comparaison des valeurs moyennes dans les zones témoin et traitée a été réalisée à chaque date d'échantillonnage au moyen d'une analyse par modèle linéaire généralisé (GLM) en utilisant une fonction de distribution de quasi Poisson. Cette méthode a été préférée à l'ANOVA car elle est mieux adaptée à l'analyse des données qui, comme les données de dénombrement, suivent une distribution discrète³³.

En complément, les effets des traitements sur la structure des communautés d'invertébrés ont été analysés à l'aide d'une méthode dérivée de l'analyse de redondance, la PRC (*Principal Response Curve*³⁴). Cette méthode est particulièrement bien adaptée à la visualisation de la réponse des communautés à l'exposition à des substances toxiques. La construction de la première PRC est réalisée à partir des résultats d'une analyse de redondance partielle, dans laquelle le temps, le traitement et l'interaction temps \times traitement sont utilisés comme variables explicatives de l'évolution de l'abondance des différents taxons. L'axe des coefficients canoniques (C_{dt}) permet de représenter le pourcentage de la variance totale expliqué par la première PRC. L'analyse fournit aussi pour chaque taxon un poids (b_k), qui peut être interprété comme l'importance relative de chaque groupe dans la réponse de la communauté. Plus sa valeur est élevée et plus le profil de réponse du groupe est proche de celui décrit par la première PRC. Une valeur nulle ou proche de 0 indique une absence de réponse ou une réponse indépendante du traitement. Le sens de l'effet se déduit de la comparaison des signes de C_{dt} et b_k . Si les signes sont opposés, le groupe considéré présente des effectifs plus faibles dans les mares traitées que dans les mares témoins. Dans le cas contraire, les effectifs sont plus élevés dans les mares traitées que dans les mares témoins. Avant analyse par PRC, les données d'abondance ont été log-transformées en appliquant une transformation du type $x' = \ln(Ax+1)$. Le facteur A permet de faire la distinction entre les valeurs d'abondance nulles et faibles. La valeur de Ax doit être au minimum de 2. Ici, une valeur de 900 a été utilisée. L'ajout de la valeur 1 dans la transformation $\ln(Ax+1)$ permet d'éviter les impossibilités de calcul lorsque x vaut 0.

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R version 2.8.0 (R foundation for Statistical Computing), à l'exception des analyses par PRC qui ont été réalisées avec le logiciel CANOCO pour Windows, version 4.5 (Center of Biometry, Wageningen, Pays-Bas). Pour tous les tests, le niveau de significativité a été fixé à 0,05.

³² Hammer O, Harper D.A.T, Ryan P.D., 2001. PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. *Paleontol. Electronica*, 4, 9 pp.

³³ O'Hara R.B., Kotze D.J., 2010. Do not log-transform count data. *Methods in Ecology and Evolution* 1, 118–122.

³⁴ van den Brink, P.J., ter Braak, C.J.F. 1999. Principal response curves: Analysis of time-dependent multivariate responses of biological community to stress. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18, 138–148.

3. Résultats

3.1. Etat d'avancement du suivi

Les dates des interventions (traitements au Vectobac® WG) de l'EID-Atlantique et des campagnes d'échantillonnage menées par l'INRA de 2006 à 2011 dans la station de Locoal-Mendon sont présentées dans le Tableau 1.

Tableau 1. Dates des interventions (traitements) de l'EID-Atlantique et des campagnes d'échantillonnage menées par l'INRA au cours des années 2006 à 2011 dans la station de Locoal-Mendon.

Mois	2006		2007		2008		2009		2010		2011	
	EID	INRA										
Février												
		16/02		21/02	14/02							
Mars												17/03
		21/03										
			28/03		28/03							
Avril	07/04			05/04		01/04				01/04		
									09/04			
							17/04	23/04				
Mai			25/04		24/04							24/04
	03/05	04/05										05/05
			23/05		09/05	15/05	15/05					
Juin					28/05		29/05			18/05		
	01/06								04/06		03/06	
		14/06			11/06		12/06					
Juillet					25/06		26/06					
								01/07				
	15/07				10/07				15/07			
Août			19/07							19/07		
			25/07					29/07				
			03/08	01/08								
Septembre					07/08							08/08
		16/08				20/08				18/08		
					25/08		26/08	27/08				
Octobre		05/09										
				11/09								
	17/09									16/09	23/09	
Novembre												
								19/11				

 Prélèvements analysés

3.2. Paramètres physico-chimiques

Les résultats obtenus pour les différents paramètres physico-chimiques mesurés en 2011 et sur la période 2006-2010 sont présentés sur la figure 4.

En 2011, les zones témoin et traitée de la station de Locoal-Mendon sont très comparables d'un point de vue physico-chimique (Fig. 4 A et B). Les fluctuations de la salinité y sont assez importantes (26 à 45 g/L pour la zone témoin et 23 à 47 g/L pour la zone traitée). La hauteur d'eau varie également beaucoup au cours de l'année.

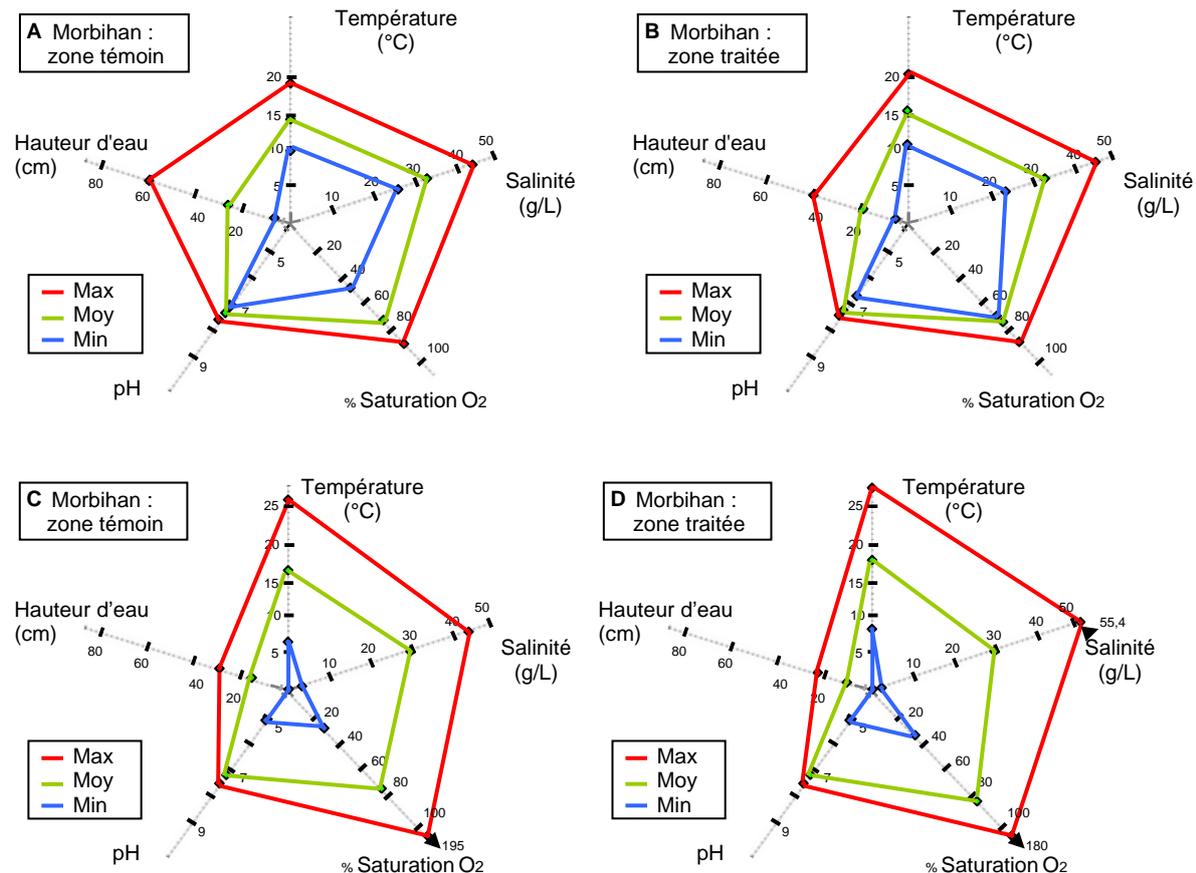


Figure 4. Représentation des valeurs moyennes, minimales et maximales des paramètres physico-chimiques mesurées dans la station de Locoal-Mendon en 2011 et sur la période 2006-2010. A et C : zone témoin ; B et D : zone traitée. Max : valeur maximale; Min : valeur minimale; Moy : moyenne.

Les valeurs moyennes des différents paramètres mesurés en 2011 sont dans la gamme de variation observée pour la période 2006-2010. Les valeurs minimales observées en 2011 sont supérieures aux valeurs minimales pour 2006-2010 (Fig 4 C et D), ce qui suggère que 2011 n'a pas été une année critique en matière d'assèchement, de dessalure ou de sous-saturation en oxygène. En revanche, des valeurs maximales supérieures à celles observées sur la période 2006-2011 ont été mesurées pour la hauteur d'eau. Ceci est lié aux mesures réalisées lors de la campagne d'échantillonnage du 08/08/2011 qui a été effectuée juste après la pleine mer. Les suivis antérieurs réalisés dans cette station ont mis en évidence le rôle fondamental des fluctuations de la hauteur d'eau dans les mares sur la dynamique des communautés d'invertébrés⁴. Les résultats de 2011 confirment que ce paramètre est susceptible de varier très fortement dans cette station (0 à 60 cm).

3.3. Communautés d'invertébrés

- Structure des communautés

La figure 5 présente les valeurs moyennes des différents descripteurs de la structure des communautés d'invertébrés dans les deux zones de la station d'étude de Locoal-Mendon calculées pour chaque date d'échantillonnage depuis 2006.

En 2011, une différence ponctuelle de densité totale entre les deux zones a été notée en mai, avec une valeur significativement plus élevée en zone traitée. Cette augmentation de densité est liée à l'abondance plus élevée des *Corophium* à cette date. Elle explique la baisse ponctuelle de la diversité taxonomique et de l'équitabilité observée au même moment. Aucune différence n'a été observée en ce qui concerne la richesse taxonomique.

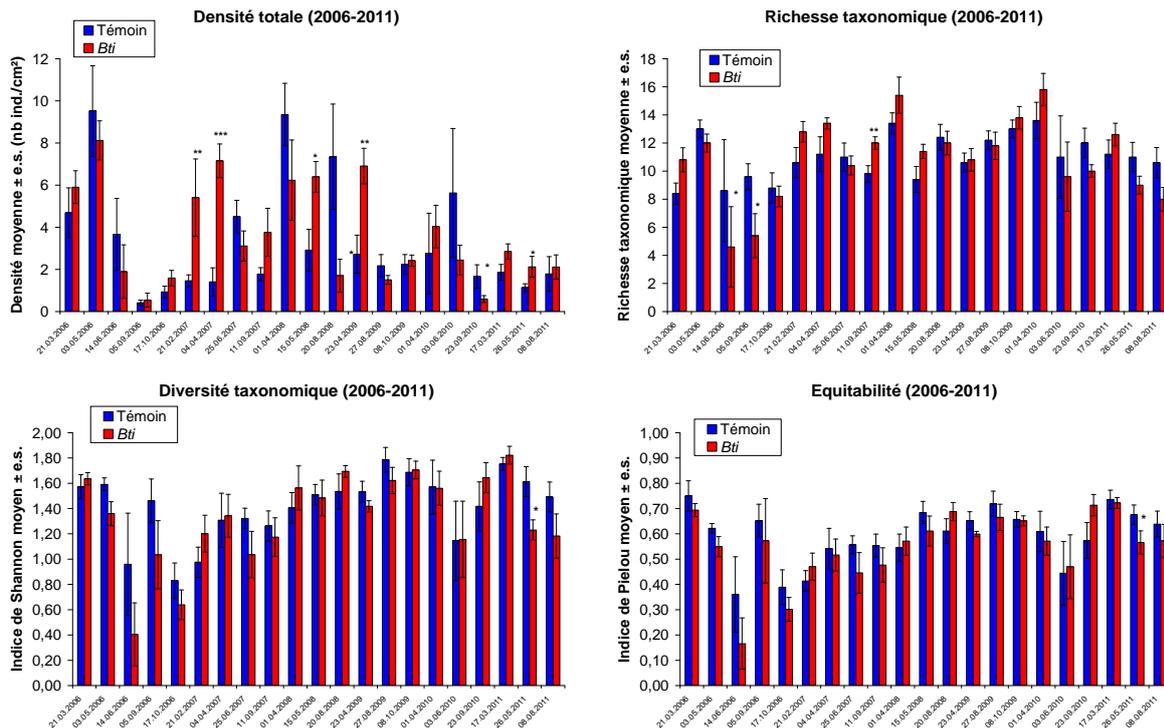


Figure 5. Valeurs moyennes (\pm erreur-standard) des différents descripteurs de la structure des communautés d'invertébrés aquatiques non-cibles aux différentes dates d'échantillonnage dans les zones témoin et traitée de la station de Locoal-Mendon sur la période 2006 à 2011 (différence significative entre les deux zones, *: $0,01 < p < 0,05$, **: $0,001 < p < 0,01$, *** : $p < 0,001$).

Quelle que soit la zone considérée, des fluctuations importantes de ces descripteurs sont observées d'une année à une autre et au sein d'une même année. Sur la période 2006-2011, les valeurs moyennes des différents descripteurs dans les deux zones sont du même ordre de grandeur (Tableau 2), ce qui suggère des dynamiques globales comparables des communautés et l'absence d'effet des traitements.

Tableau 2. Valeurs moyennes \pm erreur standard des descripteurs des communautés d'invertébrés aquatiques non-cibles mesurés dans les zones témoin et traitée de la station de Locoal-Mendon sur la période 2006 à 2011

Descripteur	Zone témoin	Zone traitée
Densité totale (ind/cm ²)	3,3 \pm 0,6	3,7 \pm 0,5
Richesse taxonomique	11,0 \pm 0,3	10,9 \pm 0,6
Diversité taxonomique	1,4 \pm 0,1	1,3 \pm 0,1
Equitabilité	0,59 \pm 0,02	0,55 \pm 0,03

- Abondance des groupes taxonomiques d'intérêt

La figure 6 présente les valeurs moyennes des densités des différents groupes taxonomiques d'intérêt dans les deux zones de la station de Locoal-Mendon calculées pour chaque date d'échantillonnage depuis 2006.

Quelle que soit la zone considérée, la densité moyenne a varié fortement au cours du temps. En 2011, la densité des Néréis était plus élevée dans la zone traitée avant les traitements ($p < 0,001$). En août en revanche, un résultat opposé a été observé ($p < 0,001$). La densité de larves de *Chironomidae* était significativement plus élevée dans la zone traitée avant le début des traitements ($p < 0,001$).

Elle a diminué fortement dans les deux zones au cours de l'année, un peu plus rapidement en zone traitée qu'en zone témoin. La densité des *Corophium* était significativement supérieure pour la zone traitée avant le début des traitements et en mai ($p < 0,001$ et $p = 0,0011$, respectivement). En août, aucune différence significative n'a été observée. La densité des *Hydrobiidae* dans la zone traitée était significativement plus faible que celle déterminée dans la zone témoin au mois d'août.

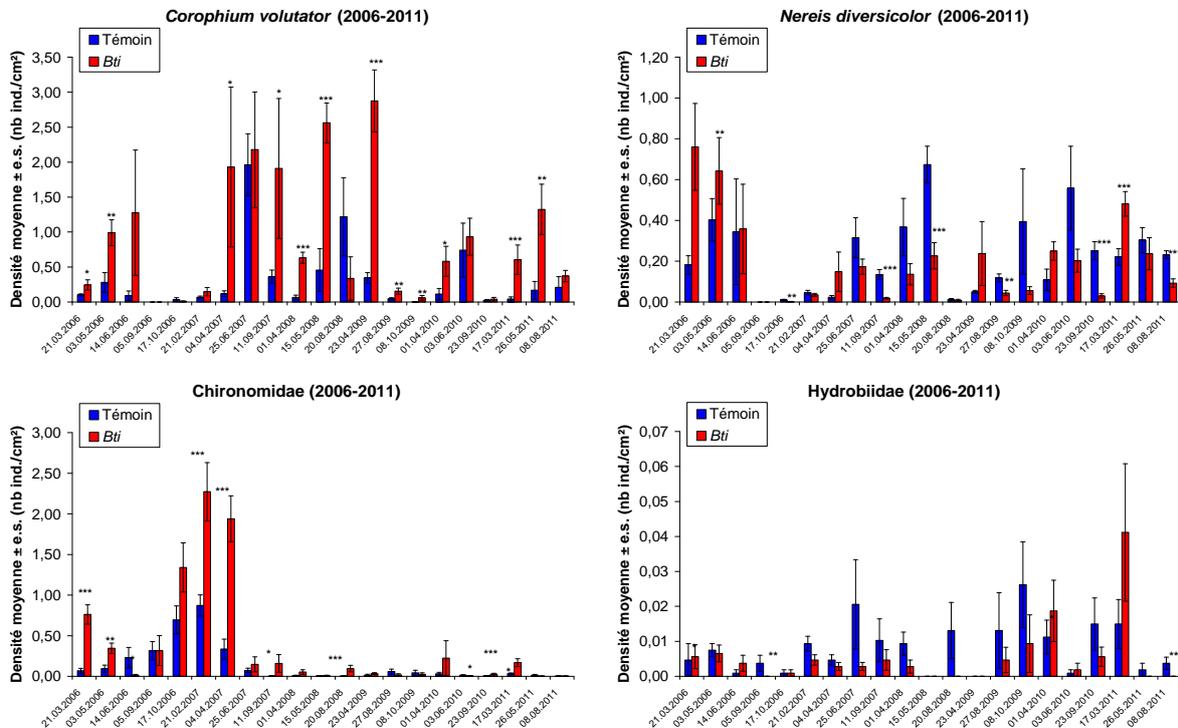


Figure 6. Densité moyenne (\pm erreur-standard) des différents groupes taxonomiques d'intérêt aux différentes dates d'échantillonnage dans les zones témoin et traitée de la station de Locoal-Mendon sur la période 2006-2011 (différence significative entre les deux zones, * : $0,01 < p < 0,05$, ** : $0,001 < p < 0,01$, *** : $p < 0,001$).

Sur la période 2006-2011, des évolutions différentes ont été observées d'un groupe à l'autre mais sans qu'un lien avec les traitements au Vectobac® WG puisse être établi. Les années 2006-2007 ont été caractérisées par une abondance plus élevée des larves de *Chironomidae* en zone traitée tandis que l'abondance des néréis dans cette zone tendait à être inférieure à leur abondance en zone témoin. Parallèlement, une augmentation de l'abondance des *Corophium* a été observée en zone traitée avec des valeurs maximales en 2009. Une compétition entre *Corophium* et néréis se produit probablement dans les mares des deux zones, ces deux espèces utilisant en partie les mêmes ressources alimentaires et construisant des terriers qui débouchent à la surface des sédiments. Des modifications du substrat en zone traitée, associées à des périodes d'assec très marquées dans cette zone en 2006 sont sans doute à l'origine d'un tassement des sédiments en zone traitée et de modifications dans la compétition entre ces deux groupes. La recolonisation par les *Corophium* de mares précédemment asséchées est vraisemblablement plus facile pour les *Corophium* que pour les néréis car leurs terriers sont moins profonds et ils sont de ce fait moins gênés par la compaction des sédiments. Les résultats obtenus en 2010-2011 semblent montrer un retour des néréis à des niveaux d'abondance en zone traitée équivalents à ceux observés en zone témoin. La poursuite du suivi dans cette station devrait permettre de vérifier cette hypothèse.

- Evolutions à long terme de la structure des communautés

La figure 7 présente les évolutions au cours du temps de la valeur moyenne de l'indice de similarité de Bray-Curtis calculé pour chaque zone et entre les deux zones.

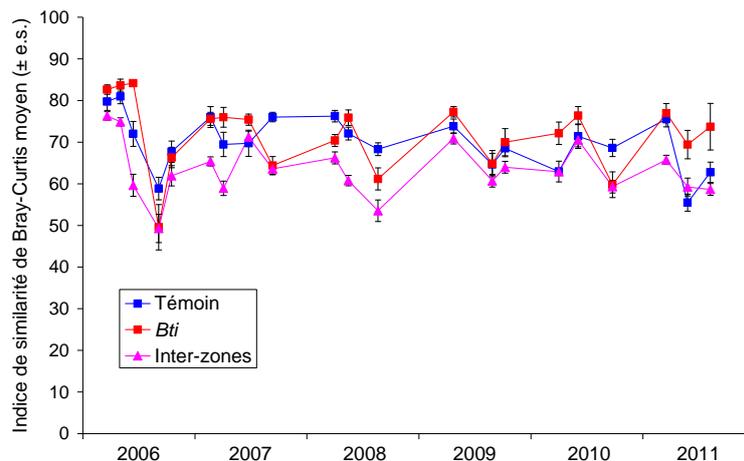


Figure 7. Evolutions au cours du temps de la valeur moyenne (\pm erreur-standard) de l'indice de similarité de Bray-Curtis (en %) calculée pour chaque date d'échantillonnage à partir des données d'abondance des différents groupes taxonomiques dans les zones témoin et traitée de la station de Locoal-Mendon sur la période 2006-2011.

Sur l'ensemble de la période 2006-2011, la similarité intra-zone est relativement élevée (valeurs moyennes de 70 et 71,7 % pour les zones témoin et traitée, respectivement). Les fluctuations de la valeur de l'indice au sein d'une même zone reflètent l'existence de dynamiques propres à chacune des mares (hétérogénéité intra-zone). La similarité inter-zones est parfois un peu plus faible que les similarités intra-zones mais la différence est peu importante (valeur moyenne de 63,5 % pour la période 2006-2011). Ceci reflète l'absence de synchronisme entre les deux zones dans les dynamiques des groupes les plus abondants (*C. volutator*, *N. diversicolor*, larves de *Chironomidae*, Copépodes). Aucune tendance à la diminution de la similarité inter-zones au cours du temps n'est observée, ce qui traduit l'absence d'effet des traitements au Vectobac® WG sur la période 2006-2011.

La figure 8 présente les résultats de l'analyse par PRC. Sur l'ensemble de la période 2006-2011, une différence significative a été mise en évidence entre les deux zones (test de permutation de Monte-Carlo, $p = 0,009$). En revanche, aucune tendance à une augmentation de la différence entre les zones témoin et traitée au cours du temps n'a été mise en évidence.

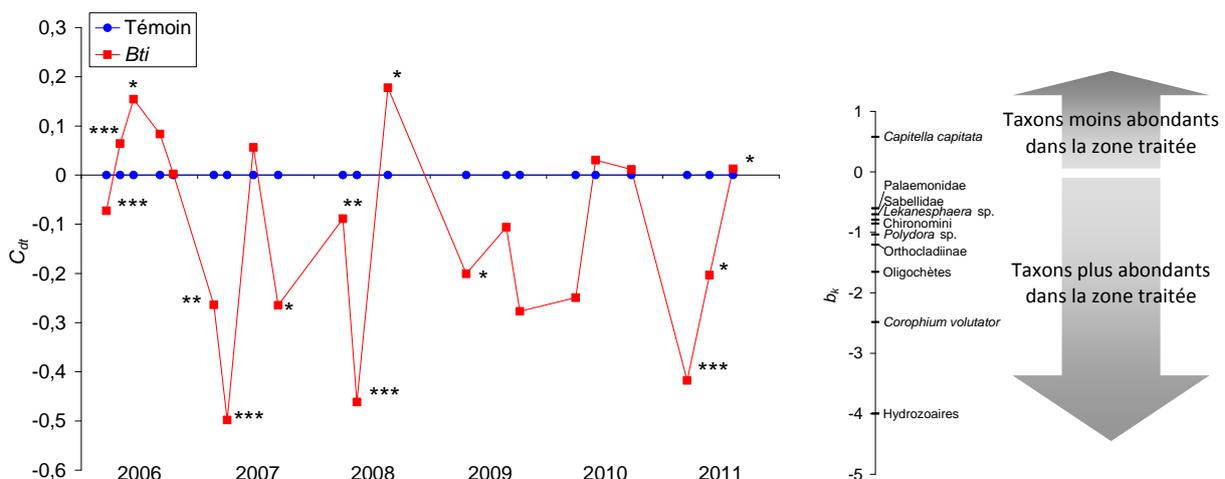


Figure 8. Première Courbe de Réponse Principale (PRC) obtenue pour les évolutions de la structure des communautés d'invertébrés dans la station de Locoal-Mendon (pour plus de lisibilité, seuls les noms des taxons présentant une valeur de b_k supérieure à 0,5 ou inférieure à -0,5 ont été mentionnés) ; différence significative par rapport à la zone témoin : * : $0,01 < p < 0,05$, ** : $0,001 < p < 0,01$, *** : $p < 0,001$.

Sur les 21 dates d'échantillonnage analysées, une différence significative entre zones témoin et traitée a été mise en évidence pour 13 dates. L'analyse du poids des espèces met en évidence que ces différences sont liées à une abondance plus élevée en zone traitée qu'en zone témoin de plusieurs groupes taxonomiques : Hydrozoaires, Crustacés (*Corophium volutator*, *Lekanesphaera* sp. et *Palaemonidae*), Oligochètes, larves de Diptères *Orthocladinae* et *Chironomini*, Polychètes (*Polydora* sp. et *Sabellidae*). Inversement, les polychètes de la famille des *Capitellidae* sont parfois plus abondants dans les mares de la zone témoin.

La part de la variabilité des abondances liée au temps est de 45 % de la variabilité totale, tandis que la part attribuable aux traitements n'est que de 14,1 %. Le reste (40,9 %) correspond à la variabilité des abondances entre mares d'une même zone pour une même date d'échantillonnage. Ceci confirme que s'il y a bien des différences entre zones, elles sont dues essentiellement aux fluctuations naturelles des abondances des groupes taxonomiques et non pas à un effet des traitements.

4. Conclusions

L'analyse des échantillons collectés de 2006 à 2011 dans la station de Locoal-Mendon supporte sans équivoque la conclusion d'une absence d'impact des traitements au Vectobac® WG sur les communautés d'invertébrés aquatiques non-cibles dans cette station. En particulier, aucun effet dommageable n'a été observé en ce qui concerne les descripteurs généraux de la structure des communautés (richesse taxonomique, diversité, dominance).

Des différences ponctuelles d'abondance de certains groupes d'intérêt trophique pour les vertébrés, notamment pour les oiseaux, ont parfois été observées entre zone témoin et zone traitée mais de façon ponctuelle, non monotone, le sens de la différence étant variable selon la date d'échantillonnage, avec souvent des abondances plus élevées en zone traitée qu'en zone témoin (Fig. 8). La raréfaction des néreidés au profit des arthropodes (*Corophium*, larves de *Chironomini*) dans la zone traitée de la station de Locoal-Mendon qui avait été mise en évidence entre 2008 et 2010 n'est pas confirmée par les données du suivi réalisé en 2011.

Le fait que certains invertébrés susceptibles d'entrer dans le régime alimentaire des oiseaux (Crustacés, Oligochètes, larves de Diptères, Polychètes) soient plus abondants dans la zone traitée au VectoBac® WG pourrait s'expliquer en partie par la disparition – ou du moins la diminution de l'abondance – des larves de moustiques, ce qui permettrait à d'autres espèces de disposer de davantage d'espace et de ressources alimentaires. En d'autres termes, en diminuant la compétition inter-spécifique, la raréfaction des larves de moustiques bénéficierait aux espèces constituant une ressource alimentaire pour les oiseaux.