

# Application du protocole BACI dans un projet de gestion du Myriophylle hétérophylle dans le port de Saint-Jean-de-Losne, Côte d'Or (21)



Crédit photo : Max Gérard, H2O

## Rapport d'étude

Novembre 2021

Elisabeth Maria GROSS, Professeure, responsable du projet

Romain NOEL, stagiaire M2 GESTE parcours GEMAREC (Gestion des Milieux Aquatiques  
Restauration Conservation)

Hélène GROFFIER, doctorante, projet Myriophylle hétérophylle



LABORATOIRE  
INTERDISCIPLINAIRE  
DES ENVIRONNEMENTS  
CONTINENTAUX



UNIVERSITÉ  
DE LORRAINE



## Table des matières

1.	Contexte et objectifs de l'étude .....	3
2.	Matériel et Méthodes.....	8
2.1	Actions réalisées par le LIEC en 2021.....	8
2.2	Site d'étude et identification des sites d'échantillonnage.....	8
2.3	Analyses in situ et prélèvements .....	10
2.4	Analyse des eaux et eaux interstitielles .....	10
2.5	Analyse des sédiments .....	10
2.6	Analyse des plantes .....	11
2.7	Analyse des polluants .....	11
2.8	Analyse des lixiviats .....	11
2.9	Tests de croissance du Myriophylle sous l'influence de colorant ou de bioadditif.....	12
2.10	Analyses microbiennes du sédiment.....	12
3.	Résultats et interprétations.....	13
3.1	Observations générales.....	13
3.2	Paramètres physico-chimiques.....	14
3.3	Analyse des eaux et eaux interstitielles .....	17
3.4	Analyse des sédiments .....	18
3.5	Analyse des plantes .....	19
3.6	Analyse des polluants .....	21
3.7	Analyse des lixiviats .....	22
3.8	Tests de croissance.....	23
3.9	Analyses microbiennes .....	24
4.	Conclusions.....	25
5.	Bibliographie .....	27
6.	Annexe .....	29

## 1. Contexte et objectifs de l'étude

Les Espèces Exotiques Envahissantes sont parmi les premières causes de l'érosion de la biodiversité mondiale recensées par l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (UICN). Au-delà de leur coût écologique, elles ont un coût sanitaire ainsi qu'un coût économique élevé, évalué au niveau international à une moyenne de 27 milliards d'euros par an depuis les années 1970 (Diagne et al., 2021), comprenant les dommages causés et les tentatives de contrôle. Si les invasions biologiques constituent un phénomène naturel auquel l'homme a toujours contribué, l'ère de la mondialisation a donné une nouvelle dimension au phénomène avec l'explosion des échanges commerciaux qui ont augmenté distances et fréquences d'introduction et expliquent en partie les coûts qui doivent aujourd'hui être supportés.

C'est dans ce contexte que le port de Saint-Jean-de-Losne, premier port fluvial de plaisance français, situé dans le département de la Côte d'Or (21), s'est vu colonisé par le M. hétérophylle (*Myriophyllum heterophyllum* Michx., 1803) – plante aquatique envahissante – et nécessite depuis 2017 des interventions de gestion pour pouvoir poursuivre son activité. Cette situation a des conséquences économiques et écologiques importantes. D'un côté, outre les éventuelles nuisances visuelles, la plante gêne la navigation en s'enroulant dans les hélices des bateaux jusqu'à provoquer des casses moteurs, ce qui peut décourager les plaisanciers de faire halte dans le port et impliquer une perte des revenus du tourisme pour la ville. D'autre part, le M. hétérophylle a recouvert presque l'ensemble de la surface du port, laissant peu de place aux espèces indigènes. Cependant la présence d'une espèce exotique peut servir d'habitat et de refuge pour la faune et cet effet reste encore à étudier en détail. Enfin, il existe un risque important de dispersion dans les milieux environnants : la navigation, la pêche et les activités nautiques peuvent accroître la dissémination en amont et en aval du port ou dans les étangs à proximité.

Le Myriophylle hétérophylle, originaire d'Amérique du Nord et Centrale, s'est installé en France depuis quelques années. Cette hydrophyte trouve un milieu particulièrement favorable dans les canaux de gabarit Freycinet (Somme, Meuse, Ardennes, Canal entre Champagne et Bourgogne, Canal de Marne au Rhin Ouest, Canal de Bourgogne, Canal de Saint-Quentin) mais aussi dans les étangs et les parties calmes et peu profondes des rivières naturelles (Saône). Sa propagation se trouve facilitée par l'interconnexion entre tous ces milieux.

Mais si le transport par les eaux de ballast des bateaux et par les activités de loisir contribue à sa dispersion, d'autres facteurs entrent en jeu, notamment l'eutrophisation due aux apports élevés en nutriments et un mode de reproduction végétatif à partir de fragments même petits (1 cm suffit au succès du bouturage ; Hussner, 2008).

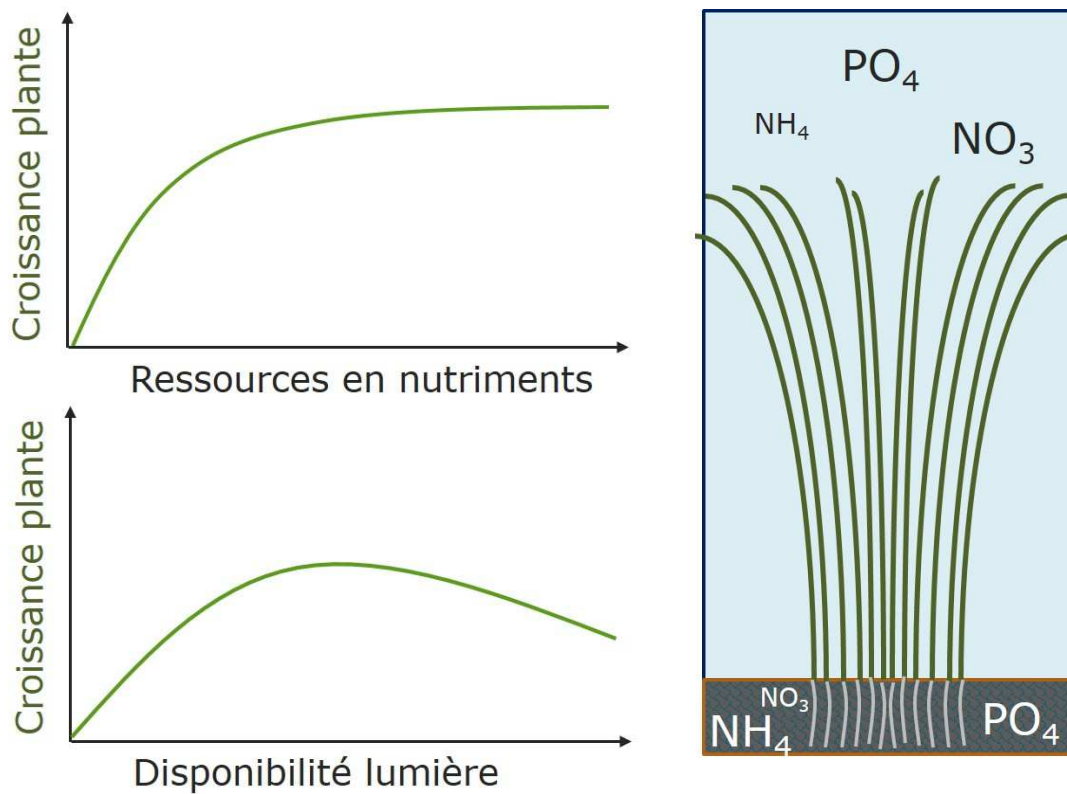
En outre, le M. hétérophylle dispose d'un certain nombre de caractéristiques spécifiques qui le rendent plus compétitif que les plantes indigènes et améliorent ses possibilités d'adaptation dans de nouveaux milieux. Ainsi dans l'eau, il forme des peuplements en tapis très denses, la plupart du temps monospécifiques, qui réduisent la luminosité incidente et le mouvement de l'eau ; lors de sa décomposition, il diminue également la qualité de l'eau et la disponibilité en oxygène. Immergé au printemps, le M. hétérophylle développe en été des tiges florales capables elles aussi de créer des tapis qui peuvent atteindre 20 à 30 cm au-dessus de la surface (**Figure 1.1**). En outre, il ne semble pas rencontrer d'ennemis naturels qui auraient co-évolué avec lui.



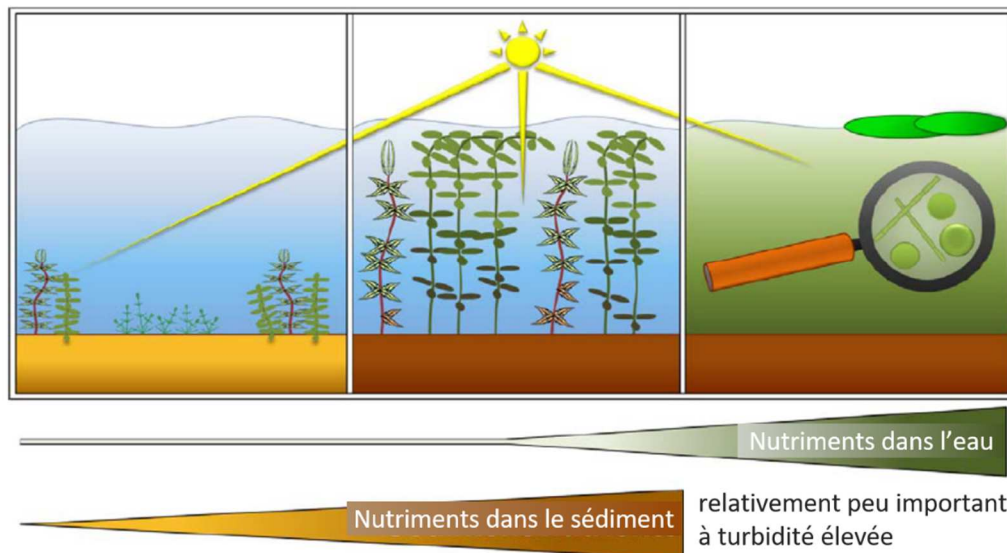
**Figure 1.1** : À gauche, tapis immergé de *M. hétérophylle* (VNF) ; à droite, tige florale de *M. hétérophylle* (A. Hussner). Source : [Gross et al., 2020](#).

Les macrophytes immergés ont besoin des mêmes ressources principales que toutes les autres plantes : des nutriments et de la lumière pour une croissance optimale. Une certaine quantité de lumière leur est nécessaire pour une croissance optimale, ce que montre la **Figure 1.2** (à gauche en bas) : la courbe de croissance augmente avec la lumière disponible jusqu'à un certain seuil au-delà duquel elle diminue. En conséquence, une couche d'algues filamenteuses qui recouvre les Myriophylles, comme observé p.ex. dans le port de Saint-Jean-de Losne, ne sera pas nécessairement nocive pour la croissance de la plante. Par ailleurs, avec une disponibilité croissante des nutriments dans l'environnement, la plante va croître jusqu'à un niveau maximal (**Figure 1.2**, à gauche en haut) en utilisant les nutriments présents dans la colonne d'eau et dans les sédiments, principalement dans les eaux interstitielles (**Figure 1.2**, à droite).

La croissance des algues (phytoplancton) et des plantes aquatiques est fortement stimulée par l'eutrophisation des milieux. Il convient de noter que dans les plans d'eau peu profonds, qui sont souvent soumis à une forte eutrophisation, une dominance soit du phytoplancton soit des macrophytes immergés est observée, avec un basculement brutal possible d'un état à l'autre. Le schéma développé par des experts néerlandais en **Figure 1.3** montre ainsi l'interaction entre les disponibilités en nutriments, dans l'eau et dans les sédiments, et en lumière, dans le développement des macrophytes et du phytoplancton. Les auteurs soulignent que le développement massif d'une seule espèce de macrophytes est souvent observé soit après une augmentation des nutriments disponibles dans la colonne d'eau et le sédiment, soit après une baisse des nutriments dans la colonne d'eau qui limite la croissance du phytoplancton, ce qui offre alors plus de lumière aux macrophytes immergés ([Verhofstadt et al. 2017](#)).



**Figure 1.2 :** La croissance d'une plante immergée en réponse à la disponibilité en nutriments et en lumière (à gauche). Les sources de nutriments se trouvent dans la colonne d'eau ou dans le sédiment, avec les nutriments disponibles dans les eaux interstitielles.



Modifié après Verhofstad et al. 2017

**Figure 1.3 :** Influence combinée de la lumière et de l'eutrophisation sur la croissance des macrophytes immergés ou du phytoplancton.

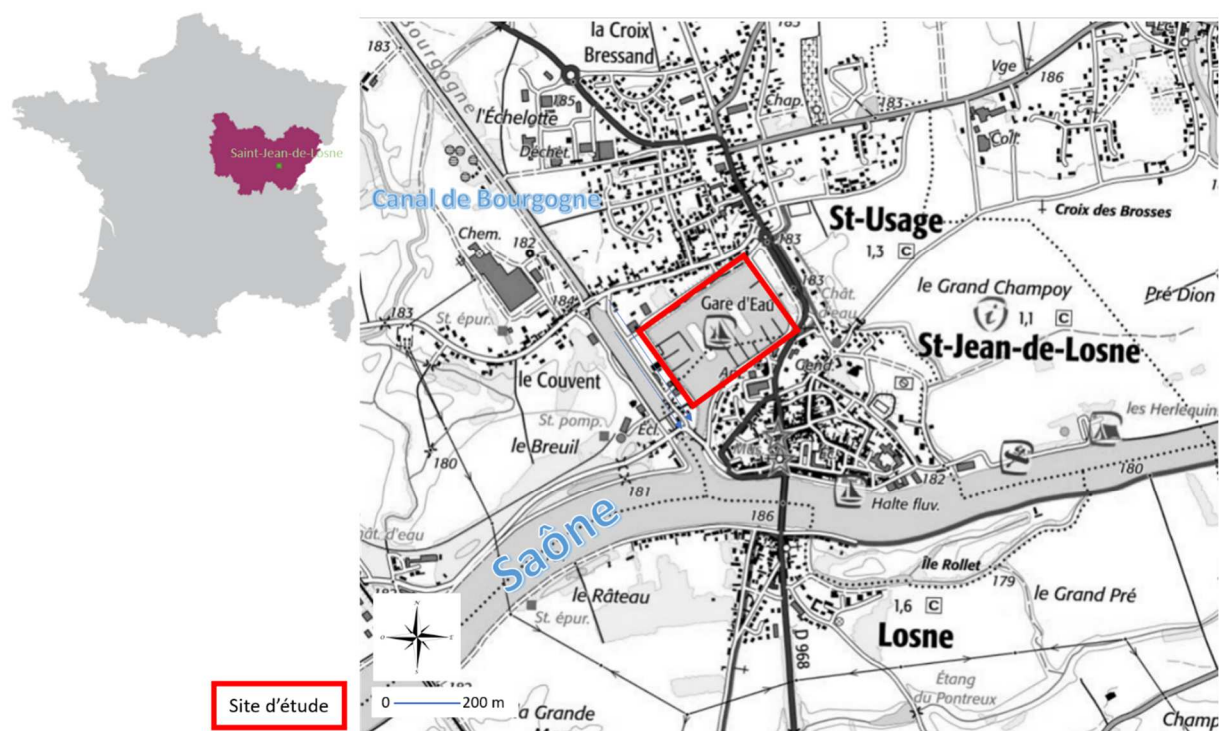
Différentes techniques de gestion ont été testées notamment aux Etats-Unis et en Europe pour tenter d'éradiquer ou au moins de contrôler le développement de la plante. Les traitements physiques sont les plus employés : techniques manuelles ou mécaniques d'arrachage ou de fauchage de la plante, privation de lumière visant à inhiber la photosynthèse (Hussner et al., 2017). Le contrôle biologique par des invertébrés, poissons, champignons ou bactéries paraît limité. Le contrôle chimique a été envisagé aux Etats-Unis mais est interdit en Europe. Enfin, la prévention reste le préalable à toute autre action (Thum et Lennon, 2006, Newman et Duenas, 2017) : depuis 2017, mesures douanières et interdiction de vente ont été prises pour le *M. hétérophylle*, conformément au règlement européen 1143/2014 (UE 1143/2014) relatif aux espèces exotiques envahissantes. La prévention passe également par des campagnes de communication à destination des usagers des milieux aquatiques.

Dans le port de Saint-Jean-de-Losne, pour tenter d'endiguer le développement de la plante, le gestionnaire Voies Navigables de France (VNF) a mis en place depuis 2019, un plan spécifique de gestion de l'espèce. Il doit permettre de limiter les effets de la plante sur les activités portuaires et de répondre aux exigences de la réglementation européenne relative aux espèces exotiques envahissantes. Il comprend plusieurs types d'expérimentation qui doivent être mises en place à partir de 2022 : 1) Installation de rideaux de bulles à l'entrée du port afin de limiter la dispersion des fragments vers la Saône ou une nouvelle recolonisation du port à partir du canal de Bourgogne. Ces rideaux de bulles à l'entrée sont censés aussi limiter l'entrée des nutriments apportés par le canal de Bourgogne. D'autres systèmes d'aération peuvent être installés à l'intérieur du port pour une meilleure aération et un brassage des eaux stagnantes afin d'éviter des phénomènes d'anoxie. 2) L'utilisation des biotechnologies pour dégrader plus efficacement la matière organique dans le port par l'épandage de bactéries BactaPro®. Ce traitement est prévu pour réduire les conséquences négatives d'une forte eutrophisation en lien avec le développement massif des *Myriophylles*, qui a créé un fort taux de matière organique dans les sédiments, avec un risque d'eutrophisation interne et de relargage du phosphore et des métaux par le sédiment. 3) La dernière action sera l'application d'un inhibiteur de photosynthèse régulièrement pendant la période de croissance de la plante afin de limiter son accès à la lumière et donc sa croissance.

Dans ce cadre, le partenariat entre VNF (Direction Territoriale Rhône Saône – DTRS) et le laboratoire interdisciplinaire des environnements continentaux (LIEC UMR CNRS 7360) de Metz, rattaché à l'Université de Lorraine a pour objectif d'observer si les méthodes de gestion qui seront expérimentées alors, auront un impact sur l'espèce ciblée. Le travail du LIEC pour l'année 2021 consiste donc à obtenir des informations complètes sur la qualité de l'eau, des sédiments et des plantes avant la mise en place des méthodes de gestion dans le port (**Figure 1.4**).

En effet, la méthode retenue par le LIEC est le protocole dit « BACI » (Before After Control Impact), qui consiste à évaluer un potentiel changement dans les paramètres environnementaux, qu'ils soient biologiques ou physico-chimiques, après une perturbation anthropique, en essayant d'exclure toute variabilité naturelle (Underwood, 1992). Il permet de réaliser un état des lieux du site d'étude avant et après perturbation. Une attention particulière doit être portée au nombre de prélèvements et de répliques à réaliser, à la fréquence adéquate pour les réaliser et aux données spatiales afin de s'assurer que les effets observés ne sont pas dus à des fluctuations temporelles ou spatiales et ainsi renforcer la puissance statistique du protocole.

Ce rapport présente en conséquence le matériel et les méthodes utilisées pour réaliser ce premier état des lieux (« avant ») avant de détailler et discuter les premiers résultats obtenus.



**Figure 1.4 :** Localisation du site d'études. Source : Géoportail

## 2. Matériel et Méthodes

### 2.1 Actions réalisées par le LIEC en 2021

Afin d'évaluer l'efficacité des traitements du port prévus, une analyse de la situation actuelle a été effectuée. En complément, certaines expérimentations ont été ajoutées afin de mieux comprendre la dégradation de la plante et son comportement en présence des traitements prévus. En détail, les actions en 2021 sont :

- Plantes : Analyse du recouvrement, de croissance et du stockage en nutriments
- Eau et sédiment : Sources de nutriments pour la plante
- Luminosité et saturation en oxygène dans la colonne d'eau
- 2 campagnes d'échantillonnage (printemps, été) sur 3 sites du port
  - Analyse des eaux (anions et cations majeurs; carbone inorganique et organique dissout)
  - Analyse des eaux interstitielles (anions et cations majeurs)
  - Analyse des sédiments (granulométrie, capacité d'échange cationique, matière organique, contenu en carbone, azote, phosphore)
  - Analyse des plantes (pigments photosynthétiques ; contenu en carbone, azote, phosphore ; métabolites défensifs / composés phénoliques)
- Au cours du mois de juillet sur 2 sites du port l'analyse permanente de l'oxygène dissout avec sondes O<sub>2</sub> proche de la surface et proche du sédiment
- Expérimentation en laboratoire sur la dégradation de la plante et analyse des eaux ruisselées
- Expérimentation en microcosmes extérieurs sur l'effet de l'inhibiteur de photosynthèse et du biotraitement sur la croissance du *Myriophylle* hétérophylle
- Analyse de la plante en regard des métaux et hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)
- Analyse microbienne du sédiment avant et après traitement avec biotraitement (sédiments du port et sédiments utilisés dans l'expérimentation en microcosmes extérieurs)

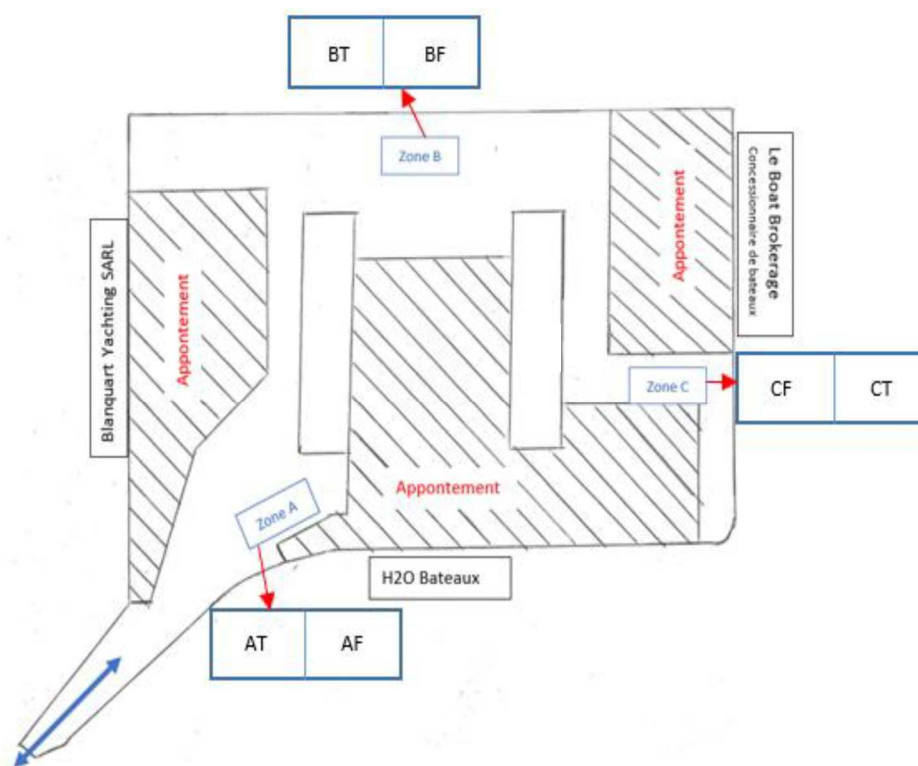
### 2.2 Site d'étude et identification des sites d'échantillonnage

Dans le port, 3 zones ont été définies (A, B, C). Ces emplacements étaient adaptés à l'étude précédente menée par Aquascop ([Aquascop 2020](#)) et ne sont pas perturbés par le passage des bateaux. Chaque zone, délimitée par l'installation de bouées, a été ensuite subdivisée en 2 zones de 35 m<sup>2</sup> (5 m x 7 m), soit un total de 3 zones faucardées (A<sub>F</sub>, B<sub>F</sub>, C<sub>F</sub>) et 3 zones témoins (A<sub>T</sub>, B<sub>T</sub>, C<sub>T</sub>) (**Figure 2.1**).

Un protocole de faucardage a été développé (**Annexe A**) afin de déterminer la quantité de biomasse faucardée. Un protocole pour la prise de photo par drone a été également développé (**Annexe B**).

La biomasse des plantes dans les 6 zones a été récupérée à l'aide d'un râteau avec lame de coupe (50 cm), permettant de récolter une surface d'environ 1962,5 cm<sup>2</sup> (cercle de 25 cm diamètre). Chaque prélèvement a été égoutté puis pesé avec une balance à crochet pour obtenir la

masse fraîche. Au laboratoire, la biomasse sèche d'un certain nombre d'échantillons a été pesée après séchage au four.



**Figure 2.1** : Localisation des zones d'échantillonnage dans le port de Saint-Jean-de-Losne.

## 2.3 Analyses in situ et prélèvements

Cinq visites du site ont été réalisées (16 mars, 12-13 avril, 25 mai, 6-7 juillet et 2 août 2021). A chaque visite, les paramètres physico-chimiques pH, conductivité et oxygène, ont été mesurés sur site avec une sonde multiparamétrique (WTW Multiline 3410) et la luminosité dans la colonne d'eau à l'aide d'une sonde sphérique (LI-COR Li 193). La clarté de l'eau a été mesurée avec un disque Secchi. On note la profondeur à laquelle le disque n'est plus visible. Durant tout le mois de juillet, 4 sondes à oxygène avec enregistrement continu (PME MiniDOT) ont également été placées dans 2 sites (A et C), à une profondeur de 20 cm sous la surface de l'eau et de 20 cm au-dessus du sédiment.

Des prélèvements des eaux, sédiments et plantes ont été réalisés les 13 avril et 6 juillet 2021. Les eaux ont été échantillonnées avec un échantillonneur tube, les sédiments avec une benne Ekman et les plantes avec un râteau de 50 cm de largeur équipé d'une lame. A la suite d'un incident de détachement de la benne Ekman, l'échantillonnage des sédiments de juillet a été refait le 2 août 2021. Les échantillons ont été transportés au froid dans des glacières. Un seul échantillon par site A, B et C a été réalisé pour les eaux et sédiments et 2 échantillons pour les plantes (1 par zone, faucardée et non-faucardée).

## 2.4 Analyse des eaux et eaux interstitielles

Les analyses ont été réalisées soit avec l'eau brute (non filtrée, pour TAC et TP), soit avec l'eau filtrée (filtre en fibre de verre GF/F Whatman ; 0,7  $\mu$ m). Le TAC (Titre Alcalimétrique Complet) a été déterminé par titrage de Gran. La concentration en carbone inorganique et organique dissouts (DIC et DOC) a été effectuée à l'aide d'un Analyseur Shimadzu TOC-V<sub>CSH</sub>. L'analyse des anions (nitrate, nitrite, phosphate, chlorure, sulfate ; NF EN ISO 10304-1) a été réalisée par chromatographie ionique (Dionex ICS 1100, colonne AS4A). La concentration en ammonium (NH<sub>4</sub> ; NF T90-015-2) et les faibles concentrations en phosphate (PO<sub>4</sub> ; NF EN ISO 6878) ont été évaluées par spectrophotométrie. Le contenu en phosphore total (TP) et en phosphore dissout total (TDP) a été mesuré par analyse spectrophotométrique après minéralisation alcaline. Les cations (Ca, K, Mg, Na ; NF EN ISO 7980) ont été analysés par spectrophotométrie d'émission de flamme (Thermo Scientific ICE 3300). Les analyses TAC, DIC, DOC et TP n'ont pas été réalisées pour les eaux interstitielles.

## 2.5 Analyse des sédiments

Le sédiment a été tamisé à 2 mm afin d'éliminer les débris organiques, anthropiques ainsi que graviers et cailloux. La granulométrie a été faite par laser après traitement des sédiments par ultrasons. La capacité d'échange cationique (CEC) a été effectuée selon la norme NF EN ISO 23470, avec analyse des cations majeurs par spectrophotométrie d'émission de flamme. Le taux de matière organique a été déterminé par perte au feu à 525°C pendant 5 h (NF EN 15169). La concentration totale en carbone (C) et azote (N) a été obtenue à l'aide d'un analyseur Carlo Erba NA2100. L'analyse du phosphore (P) a été réalisée par spectrophotométrie après minéralisation alcaline.

## 2.6 Analyse des plantes

Les plantes ont été séchées par lyophilisation. Le taux de matière sèche (DMC) a ensuite été calculé par division de la masse sèche par la masse fraîche. La qualité biochimique des plantes et de leurs différentes parties a été déterminée par l'analyse des pigments photosynthétiques (chlorophylles et caroténoïdes) et des métabolites défensifs (composés phénoliques et anthocyanines) selon des protocoles adaptés au laboratoire (Nuttens et al., 2016). L'analyse des éléments C, N, P a suivi le même protocole que celui utilisé pour les sédiments. Le contenu en cendres de chaque échantillon a été déterminé par perte au feu. L'analyse de l'activité photosynthétique des feuilles a été réalisée grâce à un appareil Mini II PAM (Modulation d'impulsions en amplitude ; Walz).

## 2.7 Analyse des polluants

L'analyse des métaux (éléments traces métalliques) et des HAP (hydrocarbures aromatiques polycycliques) a été réalisée dans la biomasse de *M. hétérophylle* des sites A, B et C. A titre de comparaison et sur nos fonds propres, l'analyse des métaux a également été réalisée dans les sédiments des différents sites.

La minéralisation de la biomasse séchée préalablement au four (65°C) a été faite avec 100 mg de matière sèche broyée et 2 mL de HNO<sub>3</sub> dans des tubes borosilicatés à haute pression et haute température dans un appareil ULTRAWAVE. Après minéralisation, le contenu du tube est transvasé dans des tubes en polypropylène (PP) de 50 mL puis le volume est ajusté à 50 mL avec de l'eau ultrapure (pour avoir un Total Dissolved Solid TDS <0.2% et un % de H<sup>+</sup> de 4%). Ensuite les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 15 min puis 10 mL sont aliquotés dans des tubes PP de 15mL pour analyse ICP-MS (Thermo iCap TQ).

Pour l'analyse des HAP, de la biomasse lyophilisée a été utilisée. Une extraction par liquide sous pression avec du dichlorométhane et Florisil a été réalisée sur deux cycles de 65 min à 130°C. La concentration en HAP dans les extraits a été analysée par chromatographie en phase inverse à l'aide d'un système UHPLC Ultimate 3000 RSLC (Dionex) équipé d'un détecteur à barrette de diodes et à fluorescence et d'une colonne Zorbax Eclipse PAH RRHD (100 mm x 2.1mm, 1,8 mm - Agilent). La phase mobile était un mélange d'eau/acétonitrile en mode gradient, avec un débit de 0,420 mL.min<sup>-1</sup>. La longueur d'onde utilisée pour la détection était de 254 nm avec le DAD. La longueur d'onde d'émission/excitation utilisée pour la détection de la fluorescence était respectivement de 260 nm/420 nm. Les concentrations de HAP ont été quantifiées avec une méthode standard externe.

## 2.8 Analyse des lixiviats

Afin d'évaluer le relargage des nutriments par les plantes récoltées et stockées sur les berges, différents tests ont été réalisés. Dans un premier essai, des plantes ont été mises dans des bacs plastiques (500 ml) et laissées sur une table dans la serre du laboratoire à température ambiante. Ces plantes ont séché sans produire de lixiviat visible. Un deuxième test a été fait avec des plantes mises dans des sachets plastique, à l'obscurité, avec un changement de température pour mimer l'alternance jour-nuit (16 : 8 h) de 22 à 14°C. Après 2 semaines, le lixiviat produit par les plantes a été récupéré et son contenu en nitrates et phosphore total analysé.

## 2.9 Tests de croissance du Myriophylle sous l'influence de colorant ou de bioadditif

Dans le cadre des actions de gestion du Myriophylle hétérophylle dans le port, est prévu l'épandage d'un colorant, comme inhibiteur de photosynthèse et d'un bioadditif, pour dégrader la vase organique. Deux tests de croissance ont donc été réalisés sur la plateforme LIECOSCOPE. Dans le premier test, l'impact de deux colorants comme inhibiteurs de la photosynthèse sur la plante a été étudié. Le produit de la société INOVAL qui doit être utilisé dans le port a été comparé à différents mélanges de produits commerciaux, le Bleu Brillant (E133) et le Rouge Allura (E129), préparés pour produire une atténuation lumineuse similaire à celle du produit prévu pour le port ou du double. Dans le deuxième test, l'effet du bioadditif seul ou en combinaison avec les inhibiteurs de la photosynthèse a été testé.

Test I avec quatre conditions :

- T (témoin) – pas d'application du colorant
- A – mélange des colorants E129 et E133 avec 48 et 207 µg/L, respectivement.
- B – mélange des colorants E129 et E133 avec 102 et 502 µg/L, respectivement.
- C – BactaPro® - inhibiteur de la photosynthèse mis à disposition (388 nL/L)

Test II avec trois conditions :

- T (témoin) – ni inhibiteur de la photosynthèse, ni bioadditif
- D – bioadditif (477 nL/L)
- E – bioadditif + inhibiteur de la photosynthèse (477 nL/L et 388 nL/L, respectivement).

Les tests ont été réalisés dans des vases cylindriques (19 cm de diamètre, 40 cm de hauteur), remplis avec 9 L d'eau du port. Des tiges apicales de 10 cm de Myriophylle ont été plantées individuellement dans des piluliers de 40 ml, dans le fond desquels avait été mis 4 cm d'un mélange des sédiments des sites A, B et C, pendant une semaine afin de développer un système racinaire. Ces plantes ont ensuite été coupées ~3 cm au-dessus du sédiment, pour mimer l'effet d'un faucardage en profondeur. Pour le test I, trois piluliers ont été placés par vase avec trois vases par condition, soit un total de 9 répliques pour chaque condition. Pour le test II, trois plantes ont été transférées dans un cristalliseur (15 cm de diamètre, 6 cm de hauteur) dans 3 cm de sédiment de chacun des sites A, B ou C (1 cristalliseur par vase, 3 vases au total).

Après 3 semaines d'exposition, une analyse de l'activité photosynthétique des plantes dans le test I (effet inhibiteur de la photosynthèse) a été réalisée avec des feuilles apicales. Après 4 semaines, les plantes de chaque test ont été récoltées individuellement, mesurées et séchées. Des analyses biochimiques des plantes ont ensuite été réalisées. Pour chaque test, les effets des traitements dans les différentes conditions ont été évalués par analyse statistique (ANOVA et test de Tukey).

## 2.10 Analyses microbiennes du sédiment

L'ADN a été extrait à partir des différents échantillons (3 échantillons de sédiments du port, sites A, B, C ; 3 échantillons (un par site A, B, C) de l'expérimentation microcosmes sans biotraitement plus 3 échantillons avec biotraitement ; 9 échantillons au total). L'ADN a été purifié à l'aide du kit PowerSoil à partir de 250 mg de sédiments (3 extractions différentes combinées). La quantité d'ADN a été dosée au Nanodrop avant d'envoyer les échantillons au séquençage (MWG Eurofins Genomic). Les échantillons ont été envoyés mardi 23/11/2021. L'amplification et le séquençage porteront sur les régions variables V3-V4 du gène 16S, environ 50 000 séquences seront produites pour chaque échantillon. Dès réception, ces séquences seront analysées afin d'identifier les UTO (unités taxonomiques opérationnelles) présentes et de comparer la diversité taxonomique des échantillons.

### 3. Résultats et interprétations

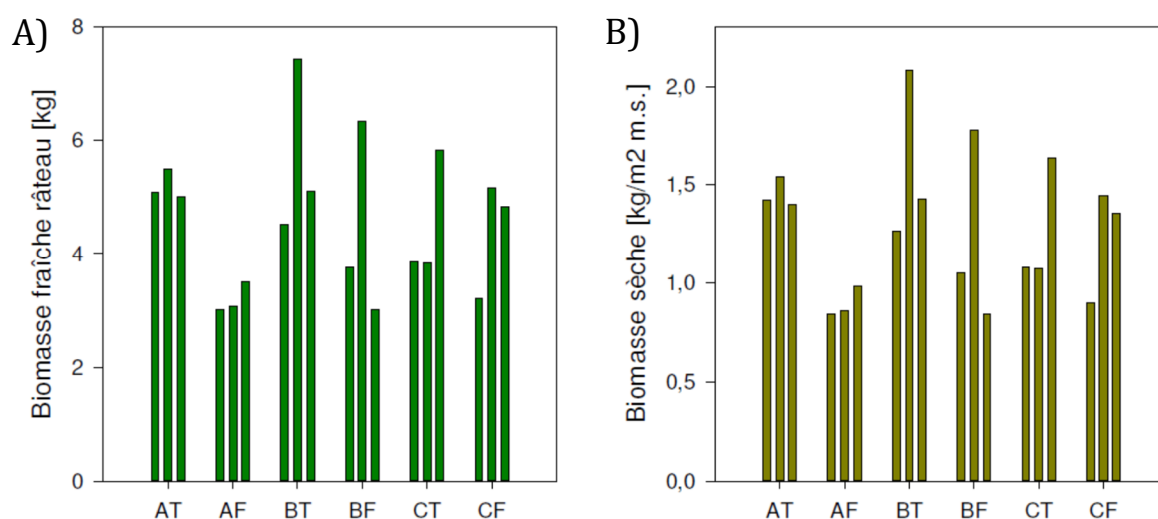
#### 3.1 Observations générales

La première visite du port a été réalisée le 16 mars 2021, avec une présentation des actions prévues par le LIEC. La biomasse des Myriophylles était déjà bien développée à la fin de l'hiver, ce qui est typique pour cette espèce sempervirente, même si les plantes n'ont pas encore grandi jusqu'à la surface de l'eau.

Le recouvrement par le Myriophylle est de presque 100%, sauf en-dessous des bateaux ou des pontons. Un suivi mensuel photographique par drone a été mis en place grâce à Max Gérard (H20). Ce suivi permet des observations sur l'ensemble du port et l'entrée avec la connexion avec le canal de Bourgogne et la Saône (voir **Annexe B**). Les photos permettent d'estimer le recouvrement et si les plantes ont atteint la surface. Cette situation est souvent observable du fait de la présence d'une couverture d'algues filamenteuses au-dessus des Myriophylles.

Afin d'identifier les effets du faucardage sur les plantes, la biomasse dans les zones témoins (T) ou faucardées (F) des sites A, B et C a été mesurée comme décrit ci-dessus (2.1). Les biomasses fraîches obtenues par un prélèvement avec le râteau sont présentées par zone pour 3 dates dans la **Figure 3.1**. La conversion de la biomasse fraîche en biomasse sèche rapportée à la surface montre que 5 kg masse fraîche par râteau sur le terrain correspondent à environ 1,4 kg masse sèche par mètre carré ou 7 à 15 kg masse fraîche par mètre cube.

Un suivi de la biomasse récoltée avec le bateau faucardeur a été mis en place. Une estimation du remplissage de la benne du bateau a été mise en relation avec la biomasse fraîche pesée à l'aide d'une balance au crochet. Il faut noter que l'estimation de la biomasse faucardée avec cette technique a été très laborieuse et mérite une amélioration.



**Figure 3.1** : A) Biomasse fraîche par prélèvement avec un râteau à lame de coupe. Un prélèvement par zone (témoin – T et faucardé – F) et site (A, B, C) a été réalisé à 3 dates (13/4, 25/5 et 6/7 de gauche à droite). B) Les équivalents en biomasse sèche par m<sup>2</sup> et zone.

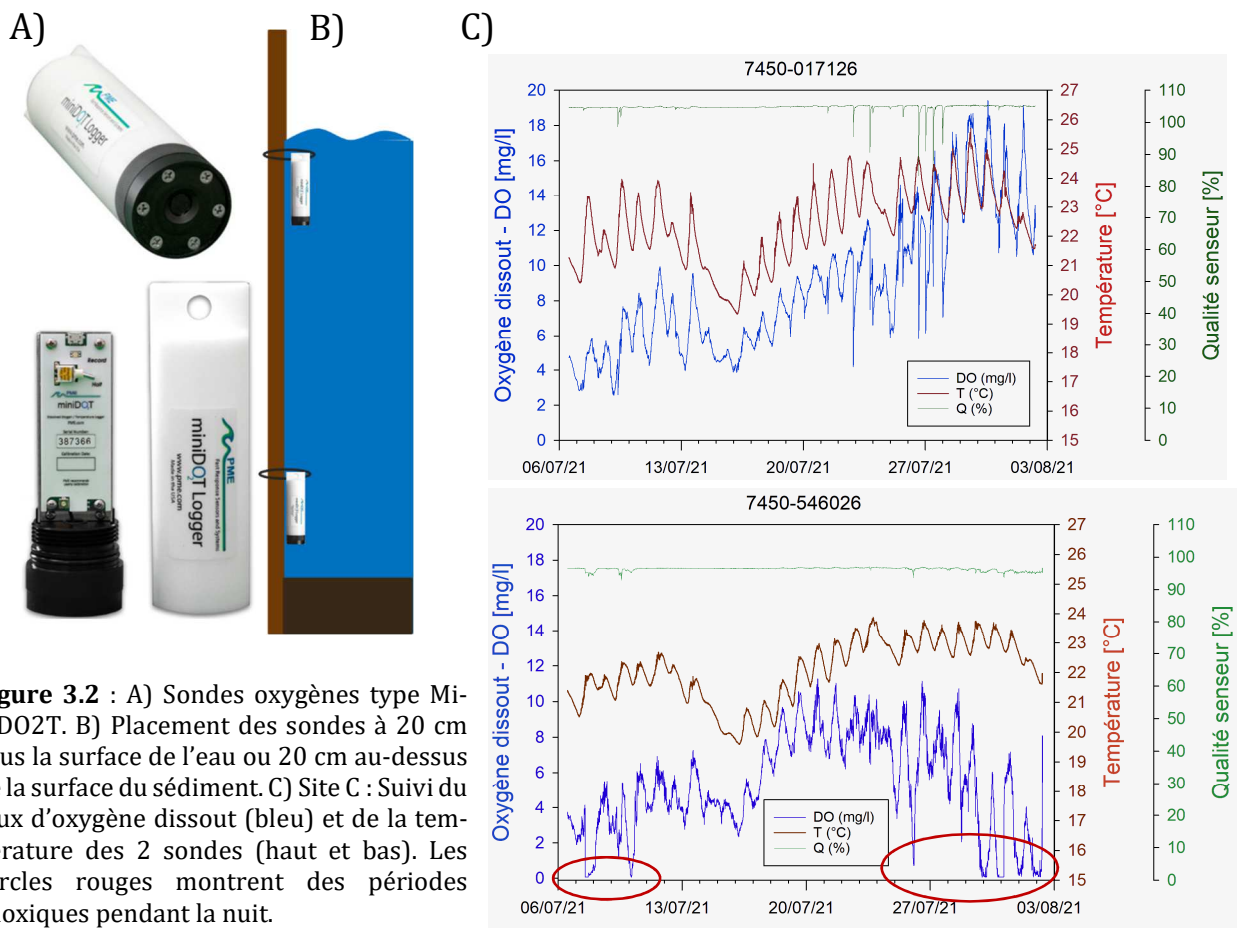
### 3.2 Paramètres physico-chimiques

Les mesures des paramètres physico-chimiques ont été faites à trois profondeurs par station afin d'identifier d'éventuelles différences entre eau de surface, milieu de la colonne d'eau et eau à proximité des sédiments (**Tableau 3.1**). La conductivité était similaire entre les différentes profondeurs et entre les sites pour chaque date ; elle a été plus haute en avril et a baissé de mai à juillet. Cette différence peut s'expliquer par un effet de dilution par la pluie et aussi par l'utilisation par la plante du bicarbonate dissout dans l'eau. Le pH est légèrement alcalin et baisse avec la profondeur, en lien avec la géochimie du bassin versant et l'activité photosynthétique de la plante. En avril et en mai, la concentration et la saturation en oxygène sont bonnes dans la journée. La sur-saturation en oxygène notamment à proximité de la surface est liée à l'activité photosynthétique de la plante. Cependant, les valeurs sont beaucoup plus faibles début juillet, après une période pluvieuse. Des concentrations descendant jusqu'à un minimum de 2,9 mg/L en profondeur ont été observées. A la suite de ces observations, la mise en place d'un suivi permanent du taux en oxygène a été jugé pertinent afin d'enregistrer les variations au cours d'une journée et entre sites.

**Tableau 3.1** : Paramètres physico-chimiques mesurés à trois dates sur les trois sites et à trois différentes profondeurs du port Saint-Jean-de-Losne.

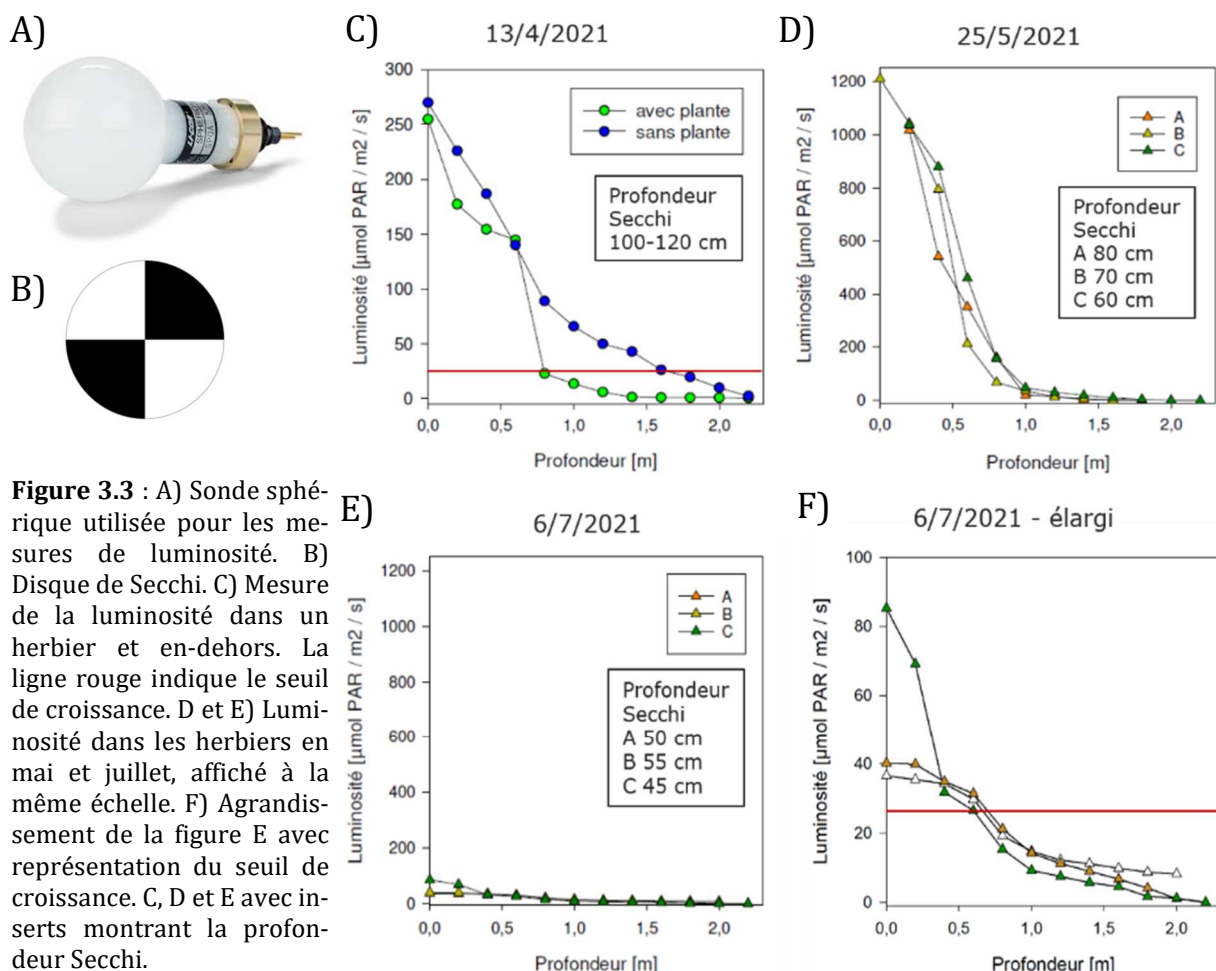
		Zone A			Zone B			Zone C		
13/04/ 2021	Condition météo	Nuageux			Nuageux			Nuageux		
	Heure	9h30			11h30			14h30		
	Profondeur (m)	0,2	1	2	0,2	0,9	1,8	0,2	1,1	2,2
	Température (°C)	12,5	12	11,9	12,4	12,4	12	12,3	12,2	11,9
	pH	8,29	8,45	7,51	8,5	8,09	7,9	8,45	8,1	7,87
	O <sub>2</sub> dissout (mg/L)	12,76	12,16	11,87	14,22	14	12	13,89	13,15	12,98
	Saturation O <sub>2</sub> (%)	121	113	105	134	135	130	132	129	121
	Conductivité (µS/cm)	575	567	569	570	569	570	567	565	571
25/05/ 2021		Zone A			Zone B			Zone C		
	Condition météo	Ensoleillé			Ensoleillé			Ensoleillé		
	Heure	10h30			13h10			15h15		
	Profondeur (m)	0,2	0,9	1,8	0,2	0,9	1,75	0,2	1,1	2,25
	Température (°C)	15,8	15	15,6	16	16,2	16	16	15,8	15,7
	pH	8,57	7,94	7,72	8,46	8,19	7,85	8,53	8,22	7,96
	O <sub>2</sub> dissout (mg/L)	13,31	12,71	12,08	12,53	12,72	11,43	13,05	12,8	11,8
	Saturation O <sub>2</sub> (%)	135	130	123	126	131	112	133	128	116
	Conductivité (µS/cm)	512	513	514	517	517	518	515	515	516
06/07/ 2021		Zone A			Zone B			Zone C		
	Condition météo	Pluie			Pluie			Nuageux		
	Heure	8h15			10h30			11h45		
	Profondeur (m)	0,2	1	2	0,2	1	2,3	0,2	1,1	2,1
	Température (°C)	21,5	21,2	20,5	21,3	20,9	19,9	21,2	20,9	20,1
	pH	8,17	8,11	7,96	8,24	8,05	7,89	8,3	8,25	7,95
	O <sub>2</sub> dissout (mg/L)	3,17	3,1	2,86	4,01	3,8	2,95	4,48	4,4	3,96
	Saturation O <sub>2</sub> (%)	43	40	40	50	47	40	51	51	49
	Conductivité (µS/cm)	480	481	479	485	485	481	495	492	489

Le suivi de l'oxygène sur les 2 stations et 2 profondeurs a montré des variations sur 24 heures pour la température et le taux d'oxygène (site C - **Figure 3.2** ; site A- **Figure A1 Annexe**). Naturellement, les variations de température sont plus fortes à proximité de la surface de l'eau qu'en profondeur. La variation journalière du taux d'oxygène s'explique avec le métabolisme du *Myriophylle* : pendant la journée, la plante réalise la photosynthèse et relâche de l'oxygène dans l'eau, avec un maximum en début d'après-midi. Pendant la nuit, la plante doit respirer et consomme de l'oxygène, créant des minima en milieu de nuit. La situation peut être aggravée pendant les périodes de forte pluie, qui impliquent beaucoup de matières en suspension dans la colonne d'eau. Cette situation est visible à partir du 14 juillet, avec une baisse de l'oxygène et de la température dans l'eau. En zone C, au sud-est du port, des phénomènes de forte anoxie à proximité du sédiment sont visibles pendant les nuits début et fin juillet (cf. cercles rouges dans la **Figure 3.2C**). A noter qu'en même temps (fin juillet) la sonde proche de la surface de l'eau enregistre de forts taux d'oxygène. La plante a beaucoup plus d'activité photosynthétique dans la zone proche de la surface qu'en bas, où la lumière est un facteur limitant. La zone A, proche de l'entrée du port, montre aussi des variations journalières, avec des concentrations en oxygène en-dessous de 4 mg/L, mais n'atteint jamais zéro.



**Figure 3.2** : A) Sondes oxygènes type MiniDO2T. B) Placement des sondes à 20 cm sous la surface de l'eau ou 20 cm au-dessus de la surface du sédiment. C) Site C : Suivi du taux d'oxygène dissout (bleu) et de la température des 2 sondes (haut et bas). Les cercles rouges montrent des périodes anoxiques pendant la nuit.

Nous avons utilisé des mesures de la quantité de lumière visible avec une sonde sphérique (**Figure 3.3A**), qui détecte la lumière visible (entre 400 et 700 nm) en quantité de photons par mètre carré et par seconde. En parallèle, nous avons identifié la profondeur où le disque Secchi (**Figure 3.3B**) n'était plus visible. La lumière baisse en intensité et change en qualité avec la profondeur d'eau (**Figure 3.3C**) déjà en l'absence de plantes (ligne bleue) et plus fortement en présence des plantes (ligne verte).



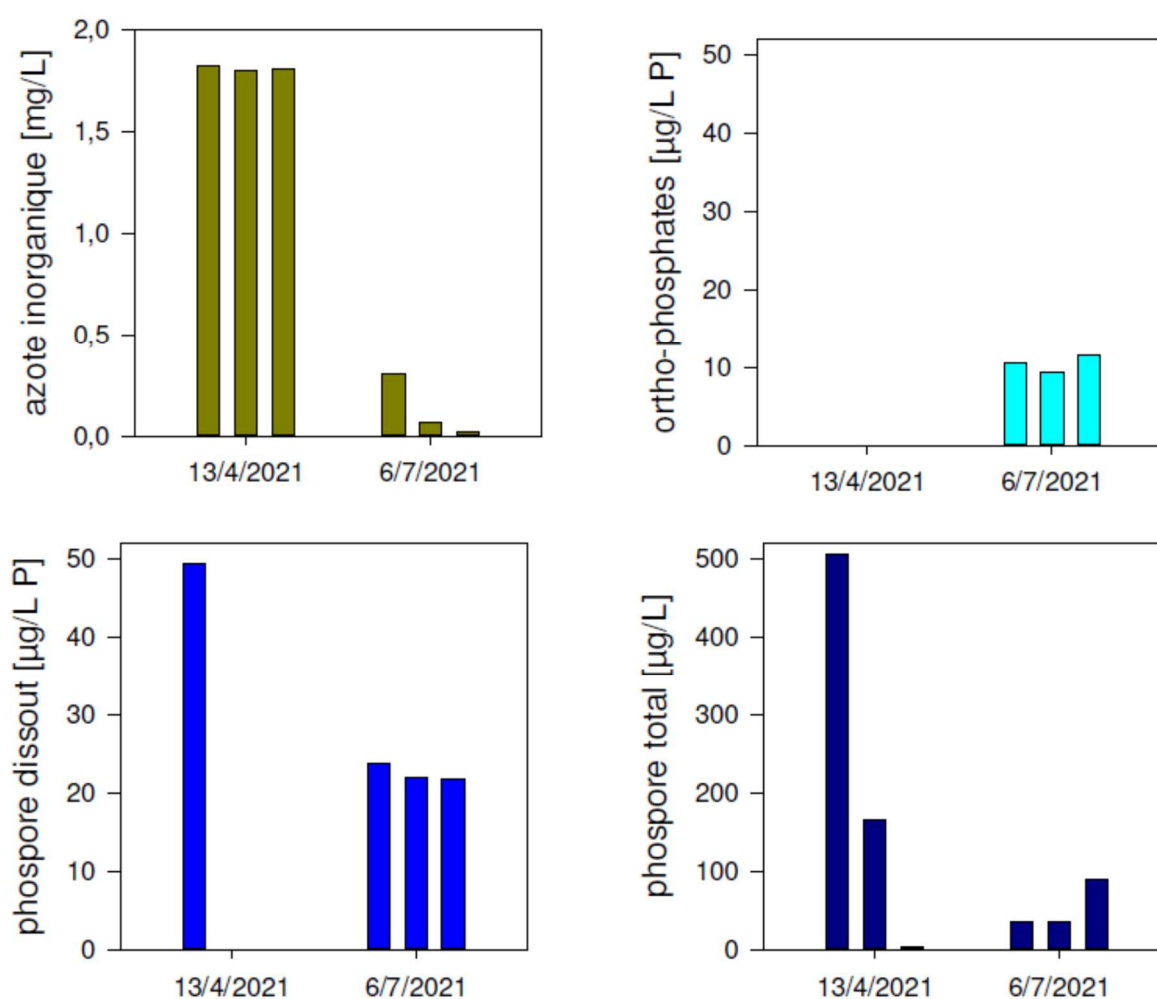
**Figure 3.3 :** A) Sonde sphérique utilisée pour les mesures de luminosité. B) Disque de Secchi. C) Mesure de la luminosité dans un herbier et en-dehors. La ligne rouge indique le seuil de croissance. D et E) Luminosité dans les herbiers en mai et juillet, affiché à la même échelle. F) Agrandissement de la figure E avec représentation du seuil de croissance. C, D et E avec inserts montrant la profondeur Secchi.

Cette baisse est encore plus forte en présence des plantes. Chaque plante possède un point de compensation à une valeur définie en luminosité. En-dessous de ce point, la croissance n'est pas possible. En l'absence de connaissances exactes sur ce point pour le *Myriophylle* hétérophylle, nous avons pris une valeur de 25 μmol PAR / m² / s, légèrement plus faible que la valeur proposée pour le *Myriophylle* à épi (Grace & Wetzel 1978), représenté par la ligne rouge (**Figures 3.3C et F**). On voit qu'à partir d'une profondeur d'environ 80 cm, ce seuil de luminosité est atteint. Mais comme la plante place beaucoup de sa biomasse au-dessus de cette profondeur, elle arrive à bien grandir même s'il fait trop sombre en profondeur.

En mai, la luminosité dans le premier mètre a été plus forte qu'en avril et en juillet. La turbidité dans l'eau et le temps très nuageux expliquent la faible luminosité en juillet, qui est légèrement plus haute en zone C que dans les autres zones, probablement moins impactée par la matière en suspension. En général, la profondeur Secchi a montré les mêmes tendances que la sonde sphérique, avec des valeurs plus élevées en mai qu'en avril et juillet.

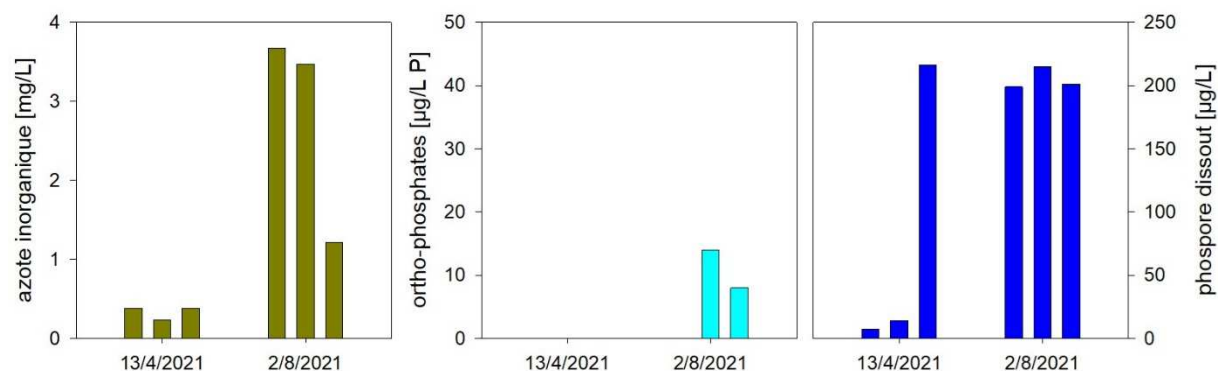
### 3.3 Analyse des eaux et eaux interstitielles

En général, de faibles concentrations en nutriments dissouts ont été trouvées dans l'eau (**Figure 3.4**). L'azote inorganique, somme des nitrates, nitrites et ammonium, était en-dessous de 2 mg/L en avril et encore beaucoup plus bas en juillet. Les orthophosphates étaient en-dessous du seuil de détection en avril et autour de 10 µg/L en juillet. Ces faibles concentrations en nutriments azotés et orthophosphates pourraient s'expliquer par une forte absorption par les Myriophylles. Les valeurs un peu plus élevées pour le phosphore total dissout (i.e. toutes les formes de phosphore, inorganique ou organique, dissout qui sont une ressource possible pour la croissance des algues ou des plantes) et le phosphore total (y compris les matières en suspension, p.ex. phytoplancton ou sédiment remis en suspension, qui sont la fraction qui peut contribuer à l'eutrophication après reminéralisation) pour le site A en avril pourraient s'expliquer par la connexion avec le Canal de Bourgogne et/ou la Saône.



**Figure 3.4 :** Visualisation des concentrations en azote inorganique, orthophosphates, phosphore dissout et phosphore total dans les 3 sites (3 barres par date représentant les sites A, B, C de gauche à droite) et pour les 2 dates sélectionnées.

L'eau interstitielle dans les sédiments contient elle aussi très peu de nutriments majeurs, ce qui pourrait s'expliquer par une forte absorption racinaire (**Figure 3.5**). En général, les valeurs sont plus élevées en août qu'au début de la période de croissance. Deux explications non exclusives sont possibles ici : soit la plante n'a plus besoin de tous les nutriments disponibles dans les eaux interstitielles, soit une partie de la biomasse morte de la plante est dégradée et relargue des nutriments vers les sédiments. Les détails des analyses des eaux et eaux interstitielles sont disponibles en Annexe (**Annexe C ; Tableaux A1, A2**).



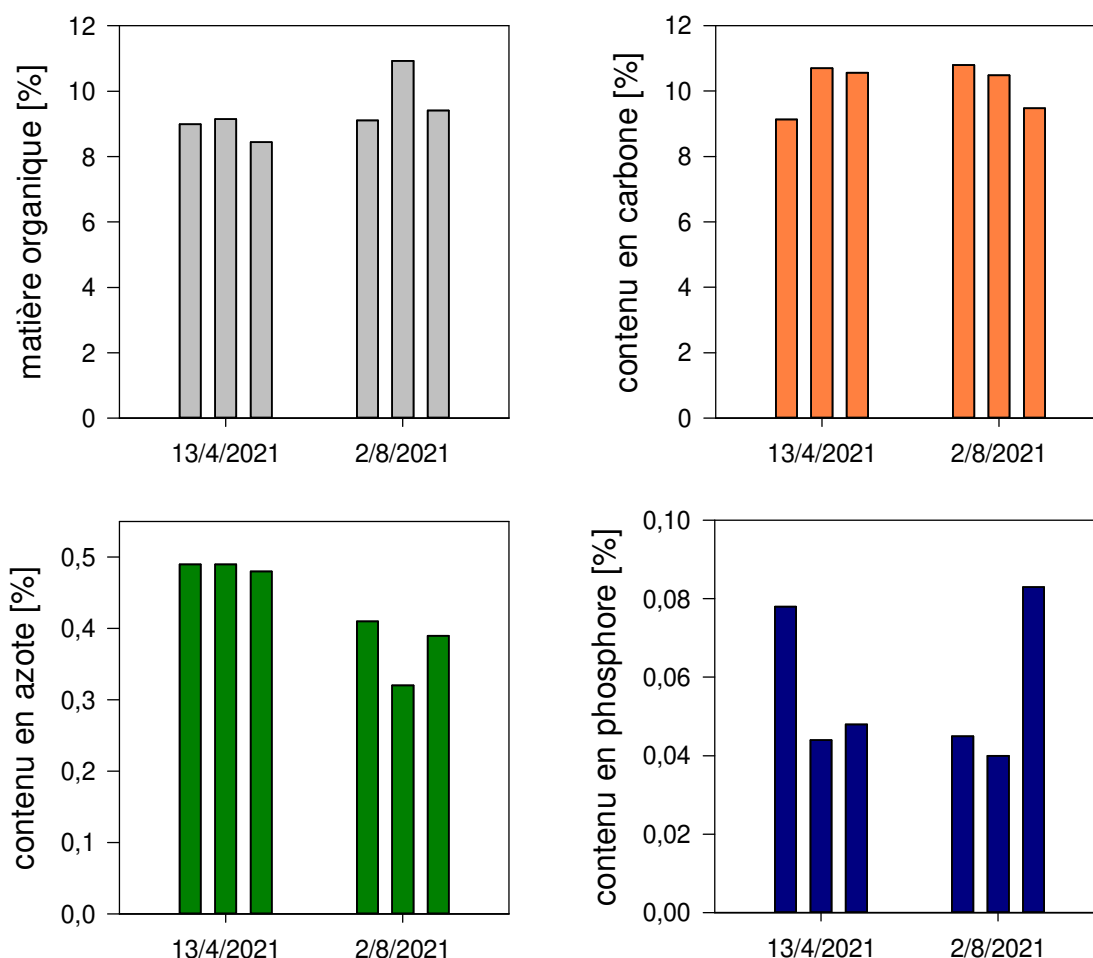
**Figure 3.5** : Visualisation des concentrations en azote inorganique, phosphore dissout et orthophosphates pour les 3 sites (3 barres par date représentant les sites A, B, C de gauche à droite) et pour les 2 dates sélectionnées. À noter que la 2<sup>e</sup> date de prélèvement des sédiments a dû être décalé vers août à cause de perte de la benne Ekman début juillet.

### 3.4 Analyse des sédiments

Les sédiments prélevés en avril et août sont très fins et vaseux. Le contenu en matière organique a été évalué entre 8,5 et 11% après perte au feu. Ces valeurs sont similaires au contenu en carbone organique (entre 9,1 et 10,8%) basé sur la masse sèche (m.s.). L'azote total s'élève à environ 0,5% (soit 5 mg/g m.s.) en avril et est un peu plus faible en août. Le contenu en phosphore total est compris entre 0,4 et 0,8 mg/g m.s. (**Figure 3.6**).

Les échantillons de sédiment analysés présentent tous des distributions granulométriques très polydispersées, s'étirant sur au moins 3 ordres de grandeur et multimodales. Dans l'ensemble, les échantillons d'août affichent des populations de particules de tailles plus petites que les échantillons d'avril. Ce phénomène pourrait éventuellement être lié à la production de la matière organique par dégradation des plantes mortes. Cela reste à confirmer. Le détail des analyses est disponible en Annexe (**Annexe C, Tableau A4**).

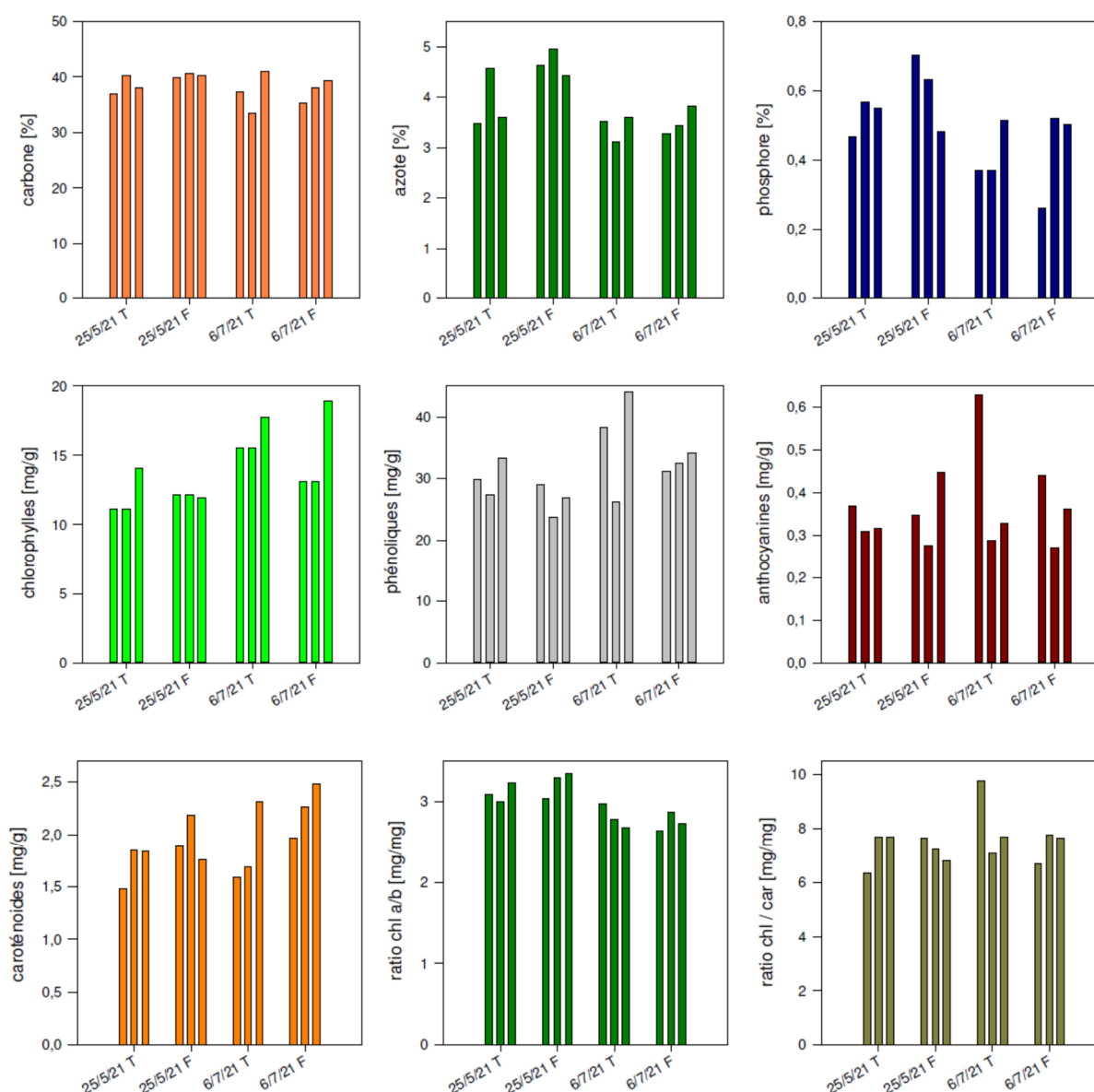
L'analyse de la capacité d'échange cationique (CEC) a démontré que les sédiments ont un assez fort pouvoir pour retenir des cations, entre 16 et 23 meq/100 g, avec de faibles différences entre sites et dates et qui s'explique en majorité par les cations de calcium (**Annexe C, Tableau A5**). Les valeurs de CEC observées indiquent un sédiment fertile, capable de complexer des nutriments et permettant une bonne croissance des macrophytes. La teneur en matière organique et la présence d'argiles dans les sédiments expliquent la valeur de la CEC.



**Figure 3.6 :** Visualisation des taux en matière organique, en carbone, azote et phosphore dans les sédiments secs pour les 3 sites (3 barres par date représentant les sites A, B, C de gauche à droite) et pour les 2 dates sélectionnées.

### 3.5 Analyse des plantes

La qualité chimique des *Myriophylles* a été analysée à deux dates différentes après le début du faucardage, dans les zones témoins et faucardées des sites A, B, C (**Figure 3.7**). Les analyses se sont focalisées sur les feuilles apicales (10 premiers cm de la plante) afin de refléter la chimie des tissus en croissance. Le contenu en carbone des plantes est conforme aux attentes. La forte croissance des plantes dans le port est possible grâce à une disponibilité élevée des nutriments, que reflètent les fortes teneurs en azote et phosphore dans la biomasse. En général, nous n'avons pas trouvé de différences entre sites ni entre zones faucardées ou non. Seul le contenu en azote des feuilles apicales des zones faucardées en mai, qui ne diffère pas significativement des zones non faucardées pour la même période, est légèrement plus haut que ceux relevés sur les 3 sites en juillet. La variabilité des données est normale au vu des différences temporelles et spatiales de l'environnement de la plante, qui influent sur l'accès à la lumière et aux nutriments.



**Figure 3.7 :** Analyse chimique des feuilles apicales du *Myriophyllum heterophyllum*. Données pour les 3 sites (3 barres par date représentant les sites A, B, C de gauche à droite), les zones témoin (T) et faucardées (F) et pour les 2 dates sélectionnées. Le faucardage a commencé en avril 2021. En mai 2021, une légère augmentation en azote a été observée dans les plantes faucardées. En juillet, le rapport entre chlorophylle a et b est légèrement plus bas, probablement à cause du temps très nuageux pendant cette période. Plus d'explications dans le texte.

Concernant les pigments photosynthétiques, la teneur en chlorophylles a tendance à être plus élevée en juillet qu'en mai. Nous observons également un ratio entre les deux chlorophylles a et b plus faible en juillet. Les deux observations sont conformes à ce qu'on peut attendre pour une plante habituellement à l'ombre en juillet pendant une période très nuageuse et pluvieuse. Les valeurs pour les caroténoïdes, pigments photosynthétiques et potentiels marqueurs d'un stress de la plante, sont peu variables et le ratio entre chlorophylles et caroténoïdes est très stable entre sites et dates. Les composés phénoliques et les anthocyanines montrent une certaine varia-

bilité entre sites et dates, mais sans aucune différence significative. Nous n’observons pas de différences entre sites témoins et faucardés pour les pigments photosynthétiques et les composés phénoliques ou les anthocyanines.

En août, nous avons également réalisé une analyse de la biomasse sèche en fonction de la surface. En moyenne, nous avons trouvé un peu plus qu’un kilogramme de masse sèche par mètre carré. Avec ce même matériel, nous avons également fait des analyses chimiques (contenu en carbone, azote et phosphore ; analyse des polluants). Les valeurs obtenues pour azote et phosphore peuvent être considérées comme des valeurs moyennes pour la biomasse totale, car elles sont basées sur toute la plante et pas seulement sur la partie en croissance (feuilles apicales). Les contenus en carbone, azote et phosphore sont plus faibles que pour les feuilles apicales car la biomasse inclut les tiges et feuilles basses, qui contiennent moins de nutriments. Avec en moyenne 20 mg/g d’azote et 2,7 mg/g de phosphore, la plante contient encore beaucoup de nutriments, sans indication de carence (seuils de croissance à 13 mg/g N et 1,3 mg/g P ; [Gerloff & Kromholz 1966](#)).

**Tableau 3.2** : Densité de biomasse et contenu en carbone, azote et phosphore pour les sites A, B, et C

Site	Densité [g m.s./m²]	C [% m.s.]	N [% m.s.]	P [% m.s.]
A	1036	25,14	1,73	0,22
B	1077	26,30	2,04	0,29
C	1163	26,57	2,17	0,30

Lors de la préparation des plantes pour les analyses chimiques en août, nous avons prélevé quelques macroinvertébrés associés (nombre trouvé entre parenthèse): *Asellus* spp. (3), *Physella acuta* (10), *Physa* spp. (1), *Stagnicola* spp. (1), *Gammarus* spp. (16), Chironomidae Tanypodinae (2), *Dugesia tigrina* (2), *Ischnura* (2), *Naucoris maculatus* (5). Ces données sont présentées à titre indicatif et en complément de l’étude fait par GREBE. Il n’est pas ici possible de conclure sur leur densité rapportée à la biomasse de la plante.

### 3.6 Analyse des polluants

L’analyse des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) dans la plante a montré la présence de cinq composés différents (fluoranthène, pyrène, benzo(a)anthracène, chrysène et benzo(g,h,i)pérylène), tous comprenant quatre cycles aromatiques, mais aucun HAP plus léger (**Annexe C, Tableau A6**). Il est à noter que certains composés ont été détectés seulement sur un ou deux sites. Les concentrations trouvées se situent à la limite supérieure de ce qui a été observé pour les macrophytes des rivières ([Hassan et al., 2016](#)) et méritent un suivi afin de comprendre le rôle de la plante dans la dépollution éventuelle des sédiments. Il est possible que ces polluants organiques soient capables de se bioaccumuler si la biomasse végétale est consommée par des herbivores. La norme de qualité environnementale (NQE) préconise un seuil de 5 µg/kg pour les poissons pour le benzo(a)pyrène ([Arrêté du 27 juillet 2015 modifiant l’arrêté du 25 janvier 2010, tableau 88](#)). Une analyse des sédiments sera nécessaire afin de voir si la pollution en HAP est différente entre les 3 sites, ce qui pourrait expliquer les différences observées dans les plantes.

Les Myriophylles ont accumulé aussi plusieurs métaux dans leurs tissus (**Annexe C, Tableau A7**). Les valeurs pour chaque métal sont du même ordre de grandeur pour chaque site, mais souvent un peu plus élevées sur les sites A et C, à l'exception du strontium. Ici nous avons également réalisé sur nos fonds propres des analyses de sédiments afin de comparer les concentrations. Il n'y a pas de bioaccumulation des métaux, c'est-à-dire de concentration plus élevée dans les plantes que dans le sédiment, sauf pour manganèse. A noter que les valeurs pour le cuivre et le zinc dans les sédiments dépassent les seuils de référence ([Arrêté du 9 août 2006 modifié, Tableau IV](#)). Certaines valeurs dépassent aussi les conditions très bonnes ou bonnes du SEQ Eau version 2, 2003 (**cf. Annexe C, Tableau A7**).

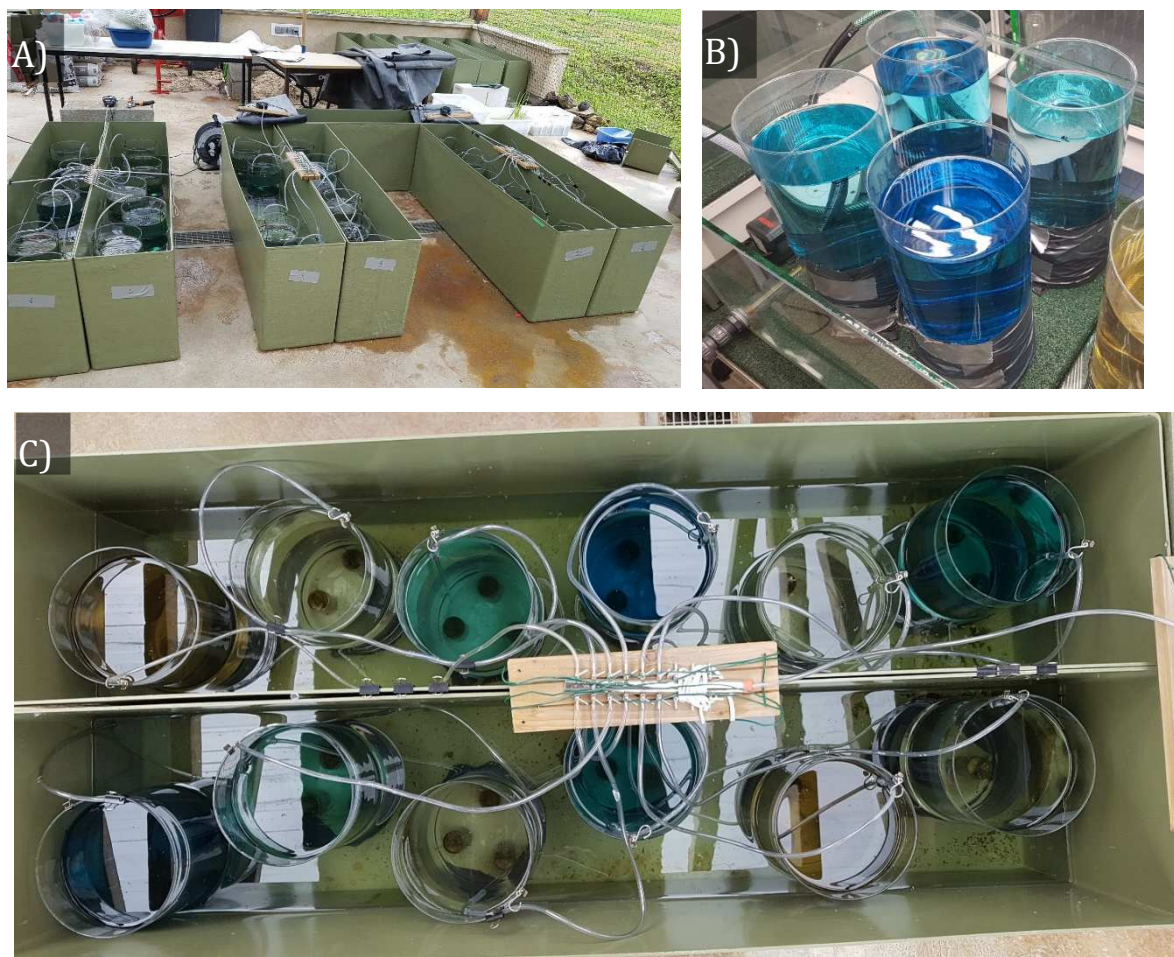
Une analyse globale des polluants dans les plantes et le sédiment ainsi que des tests en conditions contrôlées peuvent donner une vue plus complète de la capacité éventuelle de la plante à dépolluer les sédiments et de la valorisation possible de la biomasse récoltée.

### 3.7 Analyse des lixiviats

Des essais d'estimation de la charge en nutriments des eaux ruisselées de la biomasse stockée sur les berges ont été réalisés. Dans un premier essai, de la biomasse humide a été mise dans des bacs en polystyrène (500 mL) et laissée sur une table dans la serre du laboratoire. La biomasse a très vite séché sans production d'eau ruisselée au fond du bac. Un deuxième essai a été réalisé à l'obscurité, dans une enceinte soumise à un changement quotidien de température entre 22°C (16 h, jour) et 14°C (8 h, nuit). La biomasse fraîche a été pesée et mise dans des sachets Ziploc®. La dégradation de la plante a entraîné des conditions anoxiques et l'écoulement d'un lixiviat d'environ 0,2 à 0,35 L/kg de masse fraîche après 3 semaines. Nous avons identifié une concentration en phosphore dans cette lixiviation d'environ 700 à 800 µg/L et d'azote d'environ 30 à 100 mg/L. Rapporté à la biomasse, 1 kilogramme de masse fraîche peut donc libérer entre 140 et 255 µg phosphore et 6 à 35 mg azote. Avec des valeurs de biomasse fraîche entre 7 et 15 kg/m<sup>3</sup> trouvées dans le port, la biomasse faucardée sur un hectare du port peut libérer 10 à 18 g de phosphore et 0,4 à 2,5 kg d'azote. Libérés dans l'eau du port, c'est l'équivalent à minima de 50 µg/L de phosphore et 2 mg/L d'azote.

### 3.8 Tests de croissance

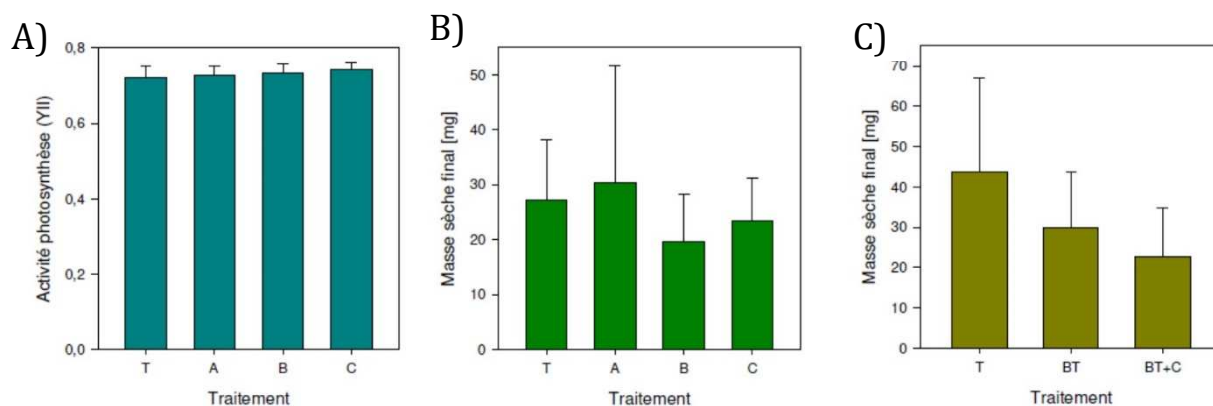
L'effet d'un inhibiteur de photosynthèse et d'un bioadditif sur la croissance des Myriophylles a été testé en conditions contrôlées les plus proches possibles des conditions rencontrées sur le terrain. La croissance des plantes a été réalisée avec de l'eau du port et dans des sédiments du port. Deux tests indépendants ont été faits.



**Figure 3.8 :** Mise en place des tests de croissance sur la plateforme LIECOSCOPE (<https://liec.univ-lorraine.fr/content/ecoscope>). A) Agencement des bacs. B) Eaux colorées avec inhibiteur de la photosynthèse. C) Agencement des plantes dans les vases.

Le premier test avec des inhibiteurs de la photosynthèse n'a pas donné de résultats significatifs. L'activité photosynthétique des plantes n'a pas été perturbée, il y a même eu une tendance à une activité légèrement plus forte. Cette observation peut s'expliquer par le fait que la plante essaie de compenser la baisse en luminosité. De la même manière, aucun effet significatif n'a été observé sur la croissance des plantes. (**Figure 3.9**).

Dans un deuxième test, l'effet du bioadditif seul ou en combinaison avec l'inhibiteur de la photosynthèse a été testé. La croissance des plantes dans le traitement combiné a baissé significativement.



**Figure 3.9 :** Résultats des tests de croissance en conditions contrôlées sur la plateforme LIECOSCOPE. A) Effet des inhibiteurs de photosynthèse sur l'activité photosynthétique de la plante. T – témoin ; A et B – 2 concentrations différentes de Rouge Allura (E129) et Bleu Brillant (E133), C – inhibiteur de photosynthèse mis à disposition par Inoval, appliqué dans la concentration prévue pour son application dans le port. B) Effet des différents traitements avec inhibiteur de la photosynthèse sur la croissance des plantes. C) Effet du bioadditif seul (BT) ou en présence de l'inhibiteur de photosynthèse (BT+C), sur la croissance de la plante.

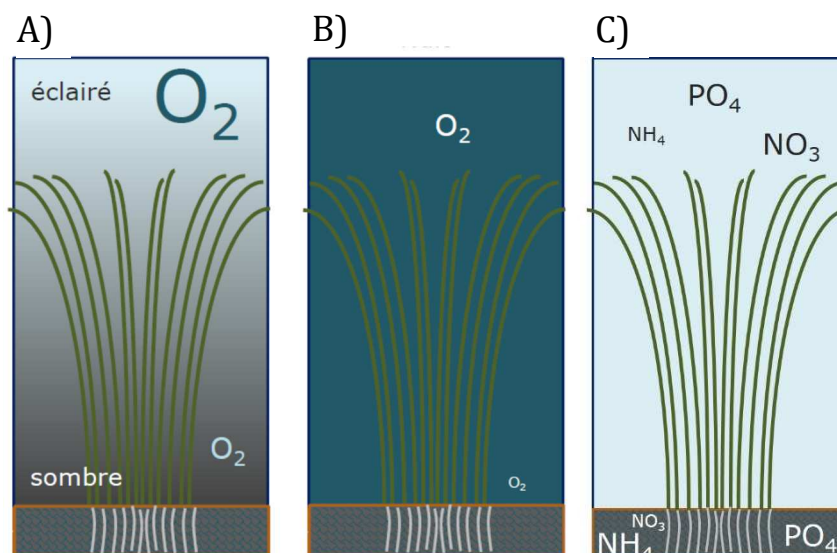
### 3.9 Analyses microbiennes

Les analyses microbiennes sont encore en cours et vont être reportés début 2022.

## 4. Conclusions

L'étude de suivi du port de Saint-Jean-de-Losne en 2021 nous a permis d'établir un état initial de la situation, dont deux éléments méritent d'être soulignés.

En premier lieu, le recouvrement du port par le Myriophylle hétérophylle est de presque 100% et la biomasse présente est très importante, autour d'un kilogramme de masse sèche par mètre carré, soit environ 7 à 15 kg de masse fraîche par mètre cube.



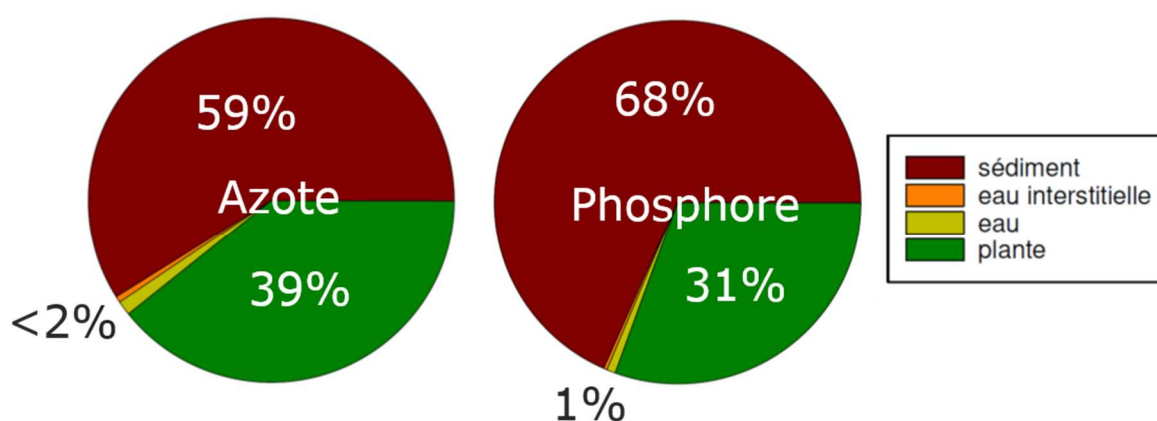
**Figure 4.1 :** Interaction du Myriophylle hétérophylle avec son environnement. A) Pendant la journée, la plante réalise la photosynthèse et produit de l'oxygène. En profondeur, il y a peu de lumière à cause de la canopée formée par la plante. B) Pendant la nuit, la plante a besoin d'oxygène pour sa respiration. Les concentrations en oxygène dissout en profondeur, à proximité des sédiments, peuvent être très faibles. C) La plante immergée dans l'eau peut absorber des macronutriments (nitrate, ammonium, orthophosphate) présents dans les sédiments mais aussi dans l'eau.

Cette biomasse très élevée des Myriophylles dans le port influence fortement la luminosité en profondeur et la dynamique journalière de l'oxygène dans la colonne d'eau. L'activité photosynthétique forte, spécialement pendant les périodes ensoleillées, crée une sursaturation de l'eau par l'oxygène pendant la journée, surtout à proximité de la surface car la plante a beaucoup plus d'activité photosynthétique dans la zone proche de la surface qu'en bas, où la lumière est un facteur limitant. En revanche, la respiration de la plante pendant la nuit peut induire des phénomènes d'anoxie à proximité du sédiment, le plus souvent pendant les périodes pluvieuses (**Figures 4.1 A et B**).

La biomasse forte s'explique également par la connexion directe du port aux cours d'eau que sont la Saône et le Canal de Bourgogne, qui permet l'accès à une charge en nutriments élevée. Il est également possible que les eaux grises constituent une deuxième source non négligeable d'entrée des nutriments dans le port. Le rapport d'Aquascop (2020) a mentionné aussi l'entrée de l'eau souterraine à l'est du port (à proximité de la zone C), ce qui mérite d'être vérifié. Ces différentes sources de nutriments génèrent une eutrophisation du port, qui se comporte plutôt comme un plan d'eau. Le port de Saint-Jean-de-Losne peut alors être considéré comme un lac peu profond qui peut être dominé soit par les macrophytes immergés, soit par le phytoplancton. La forte clarté de ses eaux pourrait être expliquée par la compétition de la plante avec le phytoplancton pour les nutriments. En effet, la plante profite des nutriments riches présents dans le sédiment et utilise

également très efficacement les nutriments disponibles dans la colonne d'eau et dans l'eau interstitielle (**Figure 4.1C**). Cependant, un développement trop fort des macrophytes, comme c'est le cas actuellement dans le port de Saint-Jean-de-Losne, a un impact important sur le fonctionnement des écosystèmes à cause des effets négatifs sur l'oxygénation en profondeur et de l'augmentation de la matière organique après la sénescence des plantes ainsi que sur les services écosystémiques rendus. Le but d'une restauration doit donc être de privilégier le retour des macrophytes natifs à une densité modérée. Il est en effet essentiel de tenir compte du fait que la présence de macrophytes immergés dans les lacs peu profonds est considérée comme un état préférable à leur absence car elle assure la clarté des eaux et de faibles densités de phytoplancton. De plus, les plantes peuvent aussi héberger une macrofaune diversifiée.

Dans un second temps, l'ensemble de nos analyses permet de faire un bilan des nutriments majeurs (azote et phosphore) présents dans l'eau, l'eau interstitielle, les sédiments (10 premiers cm) et la plante (**Figure 4.2**). Les prélèvements de sédiment sont limités à 10 cm de profondeur compte tenu de la profondeur moyenne des racines.



**Figure 4.2** : Estimation de la distribution des nutriments (azote et phosphore) dans les différentes zones du port. L'estimation est basée sur une couche de sédiment de 10 cm d'épaisseur, une colonne d'eau d'une hauteur de 2 m, une biomasse de la plante d'un kilogramme par m<sup>2</sup> et les concentrations en azote et phosphore trouvées dans chacune des zones.

L'estimation réalisée montre qu'environ un tiers des nutriments se trouve dans la plante. Bien sûr, la dégradation partielle de la plante en profondeur pendant l'hiver ajoute de la matière organique aux sédiments. Mais même si ces proportions pouvaient être modifiées en considérant une hauteur de sédiment supérieure aux 10 cm utilisés pour notre estimation, il n'en reste pas moins que la quantité de nutriments stockés dans la plante reste très élevée car la plante profite de la forte eutrophisation du site. Il semble évident que le ruissellement des nutriments de la biomasse récoltée doit être limité au maximum au vu des fortes charges de nutriments qui peuvent retourner vers le port si cette biomasse est stockée sur les berges.

Les actions proposées par la société Inoval pour 2022 dans le port peuvent aider à la gestion du Myriophylle hétérophylle au regard de notre étude faite en 2021 puisque la combinaison d'un traitement avec inhibiteur de photosynthèse et bioadditif pour la dégradation de la matière organique a montré une moindre croissance de la plante dans une expérimentation en conditions contrôlées. En outre, en plus des barrières constituées par les rideaux de bulles qui seront positionnées à l'entrée du port, un brassage de certaines parties du port (spécialement vers la zone C) sera intéressant afin de réduire les phénomènes d'anoxie observés cette année.

En conclusion, la présence du Myriophylle hétérophylle dans le port a des impacts forts non seulement sur l'activité du port mais aussi sur le fonctionnement de cet écosystème. Le but ultime d'une restauration du port doit alors être le rétablissement d'une végétation autochtone avec des macrophytes immergés en densité modérée.

## 5. Bibliographie

Aquascop (2020). Prolifération de plantes aquatiques à Saint-Jean-de-Losne. Étude no 11129.

Arrêté du 9 août 2006 modifié relatif aux niveaux à prendre en compte lors d'une analyse de rejets dans les eaux de surface ou de sédiments marins, estuariens ou extraits de cours d'eau ou canaux relevant respectivement des rubriques 2.2.3.0, 4.1.3.0 et 3.2.1.0 de la nomenclature annexée à l'article R. 214-1 du code de l'environnement - Légifrance ([legifrance.gouv.fr](http://legifrance.gouv.fr)) – version en vigueur au 21 décembre 2020

Arrêté du 27 juillet 2015 modifiant l'arrêté du 25 janvier 2010 relatif aux méthodes et critères d'évaluation de l'état écologique, de l'état chimique et du potentiel écologique des eaux de surface pris en application des articles R. 212-10, R. 212-11 et R. 212-18 du code de l'environnement - Légifrance ([legifrance.gouv.fr](http://legifrance.gouv.fr))

Diagne, C., Leroy, B., Vaissière, A.C. *et al.* (2021). High and rising economic costs of biological invasions worldwide. *Nature* 592: 571–576. doi.org/10.1038/s41586-021-03405-6

Gerloff, G.C., Krombholz, P.H. (1966) Tissue analysis as a measure of nutrient availability for the growth of angiosperm aquatic plants. *Limnology and Oceanography* 11: 529-537

Grace, J.B., Wetzel, R.G. (1978). The production biology of Eurasian watermilfoil (*Myriophyllum spicatum* L.): a review. *Journal of Aquatic Plant Management* 16: 1-11

Gross, E.M., Groffier H., Pestelard C., Hussner A. (2020). Ecology and environmental impact of *Myriophyllum heterophyllum*, an aggressive invader in European waterways. *Diversity* 12: 127. doi.org/10.3390/d12040127.

Hassan, F.M., Salman, J.M., Dou Abul, A.A., Naji, A.S. (2016). Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAHs) concentrations in some aquatic macrophytes in Hilla River, Iraq. *Journal of Environmental Protection* 7: 198-211. doi.org/10.4236/jep.2016.72018.

Hussner, A. (2008). Ökologische und Ökophysiologische Charakteristika Aquatischer Neophyten in Nordrhein-Westfalen. Ph.D. Thesis, Biology, Heinrich-Heine University, Düsseldorf, Germany; pp. 1–192.

Hussner, A., Stiers, I., Verhofstad, M.J.J.M. *et al.* (2017). Management and Control Methods of Invasive Alien Freshwater Aquatic Plants: A Review. *Aquatic Botany* 136: 112-37. doi.org/10.1016/j.aquabot.2016.08.002.

Newman J., Duenas M. (2017). Information on measures and related costs in relation to species included on the Union list: *Myriophyllum heterophyllum*. Technical note prepared by IUCN for the European Commission.

Nuttens, A., Chatellier, S., Devin, S., Guignard, C., Lenouvel, A., Gross, E.M, (2016) Does nitrate co-pollution affect biological responses of an aquatic plant to two common herbicides? *Aquatic Toxicology* 177: 355-364. doi:10.1016/j.aquatox.2016.06.006

Système d'évaluation de la qualité des cours d'eau, Grille d'évaluation SEQ-EAU version 2 du 21 mars 2003 – Ministère de l'Environnement et du Développement Durable et Agences de l'Eau, disponible sur Observatoire de l'environnement en Bretagne (bretagne-environnement.fr)

Thum R.A., Lennon J.T. (2006). Is hybridization responsible for invasive growth of non-indigenous water-milfoils? *Biological Invasions* 8: 1061-66. doi.org/10.1007/s10530-005-5228-4.

UE. RÈGLEMENT (UE) N° 1143/2014 DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL du 22 octobre 2014 relatif à la prévention et à la gestion de l'introduction et de la propagation des espèces exotiques envahissantes, Journal officiel de l'Union européenne. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32014R1143>.

Underwood, A.J. (1992). Beyond BACI: The Detection of Environmental Impacts on Populations in the Real, but Variable, World. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 161: 145-78. doi.org/10.1016/0022-0981(92)90094-Q.

Verhofstad, M.J.J.M., Alirangues Núñez, M.M., Reichman, E.P., van Donk, E., Lamers, L.P.M., Bakker, E.S. (2017). Mass development of monospecific submerged macrophyte vegetation after the restoration of shallow lakes: Roles of light, sediment nutrient levels, and propagule density. *Aquatic Botany* 141, 29-38.

## 6. Annexe

### Annexe A1

#### Fiche Terrain Faucardage

Zone :

Date :

Heure :

Conditions météo :

Profondeur moyenne zone (m) :

Profondeur du disque de Secchi (m) :

Données de la sonde multi-paramétrique :

	Surface	Milieu de la colonne d'eau	Fond de la colonne d'eau
T°C			
pH			
Conductivité (mg/L)			
Concentration O <sub>2</sub> (mg/L)			
Taux de saturation en oxygène %			

Dimension de la benne de faucardeuse :

Longueur = 3,05 m

Largeur = 1,20 m

Profondeur de coupe = 1,20 m

Volume faucardé :

	1 <sup>ère</sup> Benne	2 <sup>ème</sup> Benne
Hauteur (m)		
Longueur (m)		
Volume (m3)		

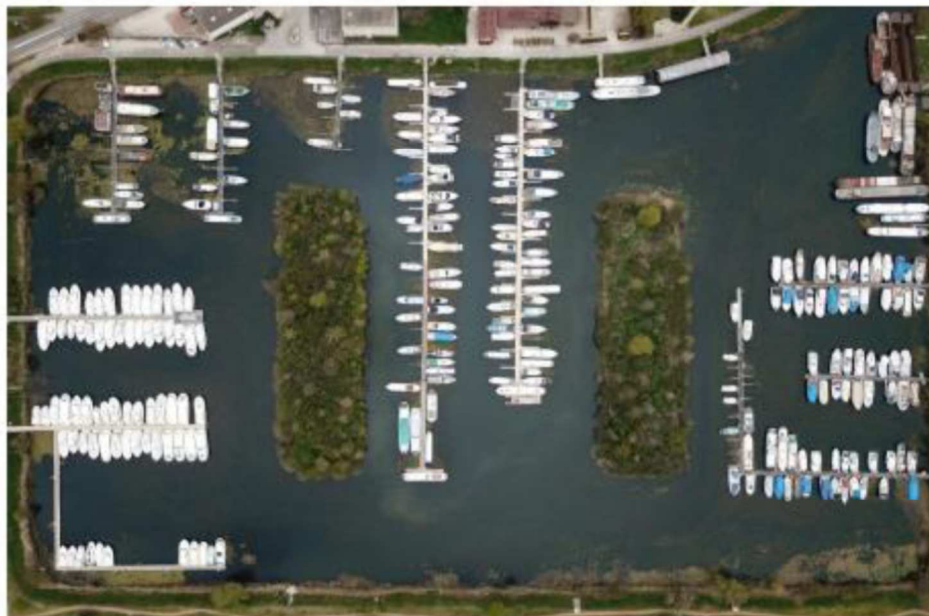
Poids de la matière faucardée :

Poids (kg)	Poids (kg)
Sceau 1	Sceau 11
Sceau 2	Sceau 12
Sceau 3	Sceau 13
Sceau 4	Sceau 14
Sceau 5	Sceau 15
Sceau 6	Sceau 16
Sceau 7	Sceau 17
Sceau 8	Sceau 18
Sceau 9	Sceau 19
Sceau 10	Sceau 20

Total :

## Annexe B : Protocole prise de photo par drone, Port Saint Jean De Losne

Prendre une photo du port entier

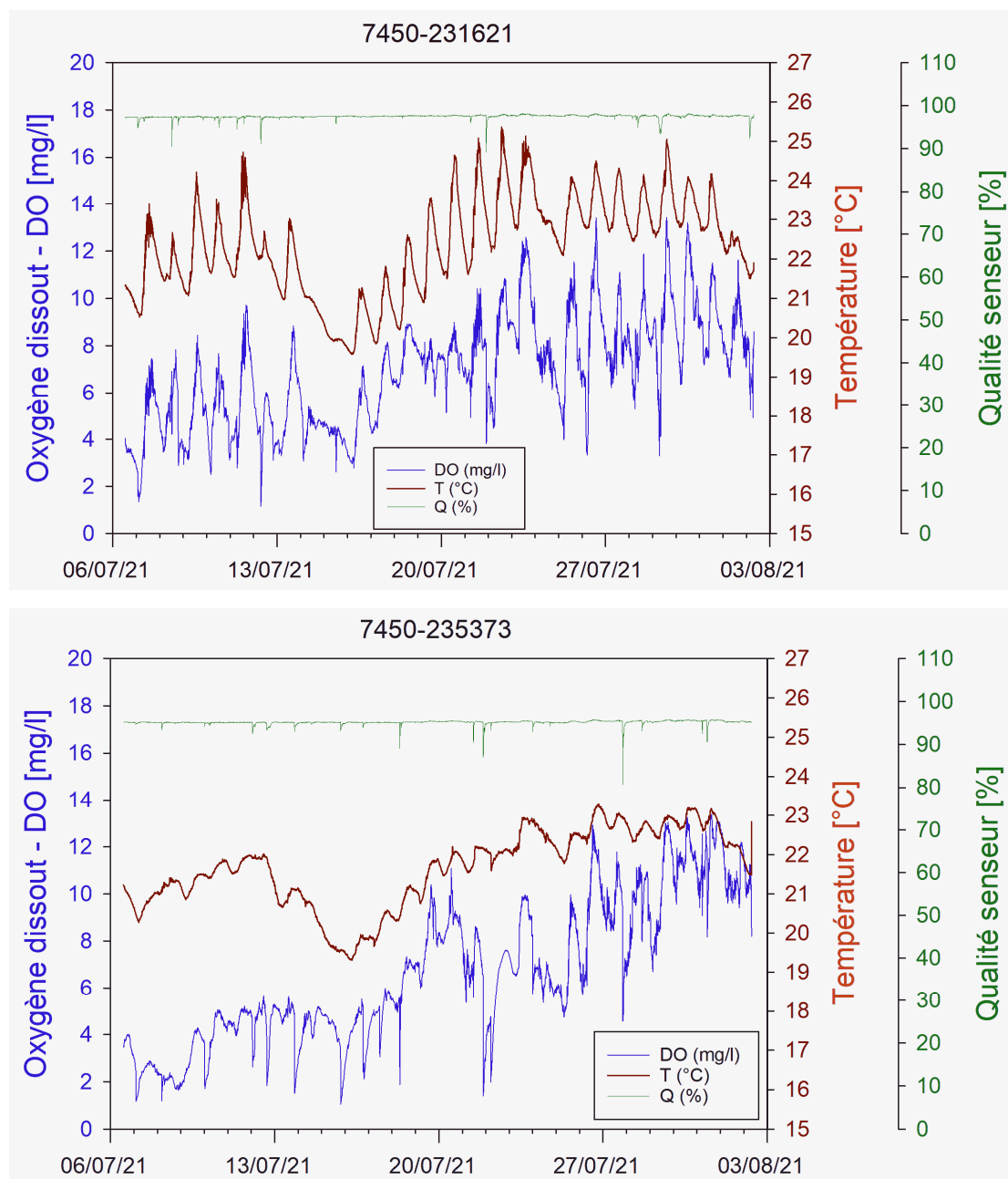


Diviser le port en 5 parties, chaque partie correspondant à une photo

La 5<sup>ème</sup> partie étant l'entrée du port jusqu'au pont.



## Annexe C : Figures et tableaux



**Figure A1** : Site A : Suivi du taux d'oxygène dissout (bleu) et de la température des 2 sondes (en haut – sonde placée 20 cm sous la surface de l'eau ; en bas – sonde placée 20 cm au-dessus du sédiment). Complément à la **figure 3.2** – site C.

**Tableau A1:** Analyses chimiques des eaux. En avril, des analyses sur 3 profondeurs ont été réalisées afin d'exclure un gradient dans la colonne d'eau. Comme peu de variations ont été détectées, une seule mesure a été réalisée en juillet avec un échantillon pris à environ 1 m de profondeur.

Site et pro- fondeur	Date	Cl	SO <sub>4</sub>	Ca	Mg	Na	K	COD	CID	TAC
		mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	meq/L
A ES	13/04/2021	31,1	27,7	94,1	4,1	15,8	4,1	3,4	51,9	0,42
A 1 m	13/04/2021	31,4	27,2	93,8	4,1	15,6	3,7			0,41
A 2 m	13/04/2021	30,9	27,1	94,9	4,1	15,7	3,8			0,41
B ES	13/04/2021	29,4	27,7	99,4	4,1	15,0	4,1	3,9	53,1	0,44
B 0,9 m	13/04/2021	29,6	27,6	97,8	4,1	14,8	4,1			0,43
B 1,2 m	13/04/2021	29,2	27,2	97,8	4,1	15,1	4,1			0,43
C ES	13/04/2021	28,4	27,0	99,4	4,0	14,2	3,9	2,0	59,1	0,43
C 1 m	13/04/2021	28,2	26,9	99,6	3,9	14,0	4,0			0,44
C 2 m	13/04/2021	28,2	26,6	98,2	4,1	14,6	4,0			0,44
A	06/07/2021	36,1	18,4	66,2	4,4	19,0	4,0	3,1	39,6	0,34
B	06/07/2021	33,7	18,2	64,1	4,3	17,6	4,4	3,5	39,5	0,32
C	06/07/2021	30,7	17,9	68,3	4,2	15,5	4,8	2,7	42,3	0,35

Site et pro- fondeur	Date	NO <sub>3</sub>	NO <sub>2</sub>	NH <sub>4</sub>	PO <sub>4</sub>	P-PO <sub>4</sub>	TDP	TP
		mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	µg/L	µg/L	µg/L
A ES	13/04/2021	7,7	0,05	0	0	0		
A 1 m	13/04/2021	7,7	0,06	0	0	0	49,5	505,8
A 2 m	13/04/2021	7,6	0,06	0,01	0	0		
B ES	13/04/2021	7,9	0,07	0	0	0		
B 0,9 m	13/04/2021	7,8	0,06	0	0	0	0	165,9
B 1,2 m	13/04/2021	7,8	0,06	0	0	0		
C ES	13/04/2021	8,3	0,06	0,01	0	0		
C 1 m	13/04/2021	8,2	0,06	0,01	0	0	0	3,1
C 2 m	13/04/2021	8,2	0,07	0,02	0	0		
A	06/07/2021	1,34	0,03	0	0,033	10,5	23,8	35,6
B	06/07/2021	0,30	0,02	0	0,029	9,3	22,0	36,6
C	06/07/2021	0,05	0,02	0	0,036	11,5	21,9	90,3

Abréviations : ES – eau de surface ; TDP – phosphore dissout total ; TP – phosphore total ; COD – carbone organique dissout ; CID carbone inorganique dissout ; TAC – titre alcalimétrique complet. Les orthophosphates (PO<sub>4</sub>) sont exprimés en concentration de phosphates et en contenu en phosphore seul (P-PO<sub>4</sub>).

**Tableau A2** : Analyse chimique des eaux interstitielles

Site	Date	Cl	NO <sub>3</sub>	NH <sub>4</sub>	NO <sub>2</sub>	PO <sub>4</sub>	SO <sub>4</sub>	Ca	Mg	Na	K
		mg/l	mg/l	mg/L	mg/L	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l
A	13/4/2021	35,59	0,04	0,44	0,08	0	2,5	104,8	5,2	19,75	4,4
B	13/4/2021	33,93	0	0,28	0,05	0	4,12	105,9	4,6	18,53	8,7
C	13/4/2021	28,49	0	0,46	0,06	0	1,53	108,5	4,3	15,67	4,4
A	6/7/2021	28,02	0	0,60	0,07	0,17	1,80	112,9	3,9	14,3	3,3
A	2/8/2021	28,67	0,029	4,71	0	0	0,47	43,6	4,4	11,9	4,1
B	2/8/2021	33,31	0,032	4,45	0	0,014	1,27	40,2	4,2	16,1	10,1
C	2/8/2021	22,99	0,012	1,55	0	0,08	8,11	49,9	3,3	9,2	2,9

**Tableau A3** : Analyse des sédiments. MO – matière organique (perte au feu). C, N, P – contenu en carbone, azote, phosphore en % de masse sèche.

Site	Date	Den- sité	MO	C	N	P
		g/cm <sup>3</sup>	%	%	%	%
A	13/4/2021	1,16	8,99	9,13	0,49	0,078
B	13/4/2021	1,17	9,14	10,70	0,49	0,044
C	13/4/2021	1,15	8,44	10,56	0,48	0,048
A	6/7/2021	1,15	9,11	10,80	0,41	0,045
B	6/7/2021	1,17	10,93	10,48	0,32	0,040
C	6/7/2021	1,11	9,41	9,47	0,39	0,083

**Tableau A4** : Analyse granulométrique (diffraction laser) des sédiments. Les valeurs caractéristiques d10, d50 et d90 rendent compte des tailles auxquelles sont inférieures respectivement 10%, 50% et 90% (% volumique) des particules.

Echantillon	Ultrasons (s)	d10 (µm)	d50 (µm)	d90 (µm)
SED A 130421	120	5,91	39,38	157,90
SED A 020821	120	3,54	22,14	68,91
SED B 130421	120	5,59	32,88	107,97
SED B 020821	120	2,61	14,51	45,04
SED C 130421	120	7,00	46,86	221,88
SED C 020821	120	3,11	23,21	72,28

**Tableau A5** : Analyse de la capacité d'échange cationique des sédiments

Site	Date	K	Mg	Ca	Na	Σ cations	CEC
		meq/100g	meq/100g	meq/100g	meq/100g	meq/100g	meq/100g
A	13/4/21	0,25	0,40	16,4	0,1	17,16	17,40
A	2/8/21	0,31	0,64	20,7	0,3	22,02	23,20
B	13/4/21	0,46	0,61	19,4	0,3	20,77	21,40
B	2/8/21	0,40	0,41	15,0	0,2	16,01	16,00
C	13/4/21	0,30	0,44	18,5	0,2	19,43	19,60
C	2/8/21	0,24	0,41	18,2	0,2	19,04	19,10

**Tableau A6** : Analyse des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) dans les Myriophylles.

site	A	B	C
HAP	[µg/kg masse sèche]		
Fluoranthène	0	0	81
Pyrène	223	89	104
Benzo(a)anthracène	115	36	0
Chrysène	114	48	0
Benzo(g,h,i)perylène	0	0	24
somme	<b>452</b>	<b>173</b>	<b>209</b>

Composés absents : Naphtalène, Acénaphène, Fluorène, Phénanthrène, Anthracène, Benzo(b)-fluoranthène, Benzo(k)fluoranthène, Benzo(a)pyrène, Dibenzo(a,h)anthracène, Indéno(1,2,3-c,d)pyrène.

**Tableau A7** : Analyse des métaux dans les Myriophylles et sédiments (basé sur masse sèche [m.s.] et fraction de sédiment < 2 mm)

Plantes			Sédiments			SEQ Bryophytes***	SEQ Sédiments***	Seuils Sédiments eaux douce****
site	A	B	C	A	B	C		
Métal	[mg/kg m.s.]			[mg/kg m.s.]			[mg/kg m.s.]	[mg/kg m.s.]
Al	5552,25	2774,84	4241,29	43106,8	48603,6	49693,7**		
As	10,69	6,84	12,50	10,05	9,39	12,63	4,5/9/27/54	1/9,8/33
Ba	126,75	89,69	136,17	109,34	137,40	149,55		
Cd	0,19	0,11	0,26	0,95	0,81	0,97	1,2/2,5/7/14	0,1/1/5
Co	3,54	2,36	4,68	7,52	8,25	10,36		
Cr	7,63	3,10	5,17	23,81	28,64	46,98	11/22/65/130	4,3/43/110
Cu	68,72	45,28	112,79	<b>229,71</b>	<b>125,38</b>	<b>197,78</b>	33/66/200/400	3,1/31/140
Fe	7786,81	4855,02	9828,36	18968,87	17895,69	23852,42		
Mn	3974,45	1965,98	4335,00	246,16	333,01	514,62		
Ni	12,06	9,44	11,37	25,85	27,49	28,69	22/45/130/270	2,2/22/48
Pb*	7,80	4,07	8,69	37,48	30,71	43,50	27/55/160/330	3,5/35/120
Sr	96,81	111,84	89,00	178,21	189,42	156,87		
Ti	68,47	47,06	60,69	221,20	235,21	250,07		
V	13,18	8,95	13,45	39,61	41,33	52,86		
Zn	168,15	103,29	263,70	<b>419,18</b>	<b>317,62</b>	<b>450,39</b>	170/350/1000/2100	12/120/460

\*Pb isotopique 206/207/208

\*\* Etalonnage quadratique changé en linéaire sur Al dans les sédiments pour obtenir une valeur extrapolée

\*\*\* SEQ-Eau, Grilles d'évaluation version 2 du 21 mars 2003 MEDD & Agences de l'Eau. [Valeurs pour classe d'aptitude bleu/vert/jaune/orange.](#)

\*\*\*\* Arrêté du 9 août 2006 modifié - Tableau IV - Niveaux relatifs aux éléments et composés traces (en mg/kg de sédiment sec analysé sur la fraction inférieure à 2 mm).