Photo 1. Doline de Grandchamp avec la cascade du ruisseau de la Haute-Folie.

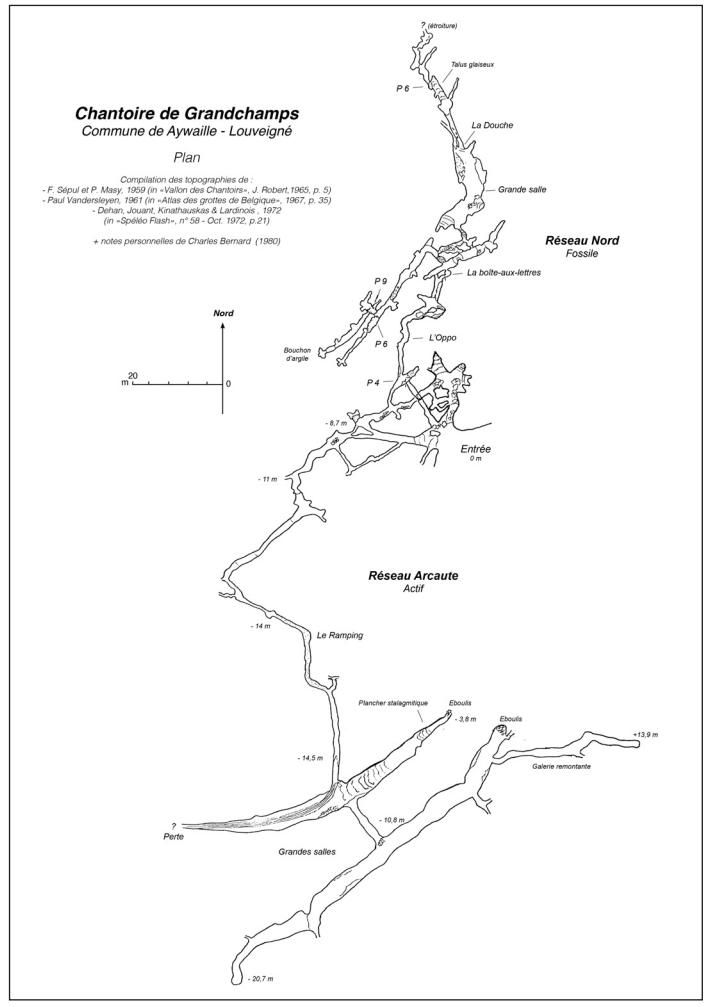

Figure 2. topographie de la chantoire de Grandchamp.

sentier d'accès à la doline qui permet aux randonneurs de l'admirer depuis une terrasse aménagée à cet effet.

On ne peut qu'être extrêmement reconnaissant à Monsieur Henri Tomson d'avoir d'abord durant toutes ces années veillé à préserver un site naturel exceptionnel puis de l'avoir généreusement offert à la communauté spéléologique qui continuera bien évidemment dans la même voie. Merci à lui pour cette générosité.

En conclusion, comme elles l'ont toujours été, la doline et la cavité seront libres d'accès permettant la pratique de la spéléologie, les observations et la recherche scientifique. Comme c'est une CSIS et qu'elle le reste, on ne peut y faire n'importe quoi et certainement pas des guidages commerciaux. Enfin, si vous êtes dans la région n'hésitez pas à aller admirer la doline, elle vaut vraiment le détour.

Charles BERNARD
Admin. CWEPSS

EVALUATION DE L'ÉTAT DE CONSERVATION DE L'HABITAT SOUTERRAIN

plus facile à dire qu'à faire!

Fig. 1. Les archéognathes ou lépismes sont de petits insectes aptères considérés comme primitifs, que l'on trouve fréquemment dans les entrées de grottes. L'espèce illustrée ici, Trigoniophthalmus alternatus, possède, comme bon nombre de ses cousins, des écailles au reflets dorés du plus bel effet. (CC by Geosesarma).

En 2022, un collectif composé de Ecofirst , de la CWEPSS et de MaSePaS, s'est vu confier par le Service Public de Wallonie (Département de la Nature et des Forêts et DEMNA) une mission bien passionnante quoiqu'assez complexe : proposer une méthodologie d'évaluation de l'état de conservation de l'habitat Natura 2000 8310, à savoir l**es grottes naturelles non exploitées par le tourisme.**

Au-delà de la stricte protection des espèces vulnérables et classées comme prioritaires (annexe II de la directive Habitats), il est aujourd'hui communément admis que la protection de la biodiversité passe aussi (voire avant tout) par une gestion et une protection durable de leurs habitats et donc des conditions de vie de ces mêmes espèces et communautés.

L'objectif de ce travail est de fournir au SPW un protocole qui permette de réaliser, sur base d'une série d'observations sur (et sous) le terrain et de la compilation de données biologiques existantes, une évaluation la plus objective et la plus cohérente possible du bon (ou mauvais) état du milieu souterrain en Wallonie. L'approche proposée intègre à la fois des caractéristiques « abiotiques » du milieu (conditions physico-chimiques, microclimat), les données biologiques (listes d'espèces présentes, rareté et dynamique des populations) ainsi que les menaces (notamment liées aux activités anthropiques) qui pèsent sur ce milieu et la biodiversité qu'il renferme.

Appréhender l'état de conservation des grottes

L'habitat 8310, comme tous les autres habitats dits « d'intérêt communautaire » visés par la directive Habitats (et listés dans son annexe I), doit faire l'objet tous les 6 ans d'une évaluation sous forme d'un rapport à remettre par chacun des états membres (dont la Belgique) à la Commission Européenne. Pour chaque habitat, à l'échelle du pays concerné, ce rapport :

- *décrit sa répartition et sa superficie*
- *évalue si l'habitat se porte bien / est dégradé*
- *indique une tendance à l'amélioration ou à la dégradation*
- *liste les menaces qui pèsent sur ces milieux.*

Pour réaliser cette évaluation, différents paramètres sont mesurés/estimés et comparés à la période de rapportage précédente (6 ans plus tôt). Pour quasi tous les habitats terrestres, ce "bulletin de santé" se base sur les inventaires floristiques. Se pose alors la question "*Comment procéder pour les habitats tels que les grottes où la flore est (quasi) absente ?*"

Les menaces et les pressions anthropiques qui pèsent sur le milieu souterrain sont également de nature très différente de celles qui affectent les autres habitats… Et les processus biologiques s'y font à des échelles de temps bien différentes de la surface, sans parler de la 3eme dimension caractérisant le milieu souterrain qui est absente au niveau du sol (même si elle ravit les amateurs de puits). Evaluer le "bon" état du milieu souterrain selon la grille de lecture similaire à celles des autres habitats prioritaires (de surface), comme c'est imposé par la directive Habitats, représente dès lors un fameux défi.

Figure 2. Les branchiopodes sont une classe de crustacés aquatiques microscopiques qui ont été détectés dans plusieurs échantillons à l'aide de l'ADN environnemental. Une espèce troglobie de l'ordre des cladocères (même groupe que celle illustrée ici) est présente en Belgique (Photo DG Borin).

Figure 2. Prélèvements biologiques à la grotte de Bohon sur paroi argileuse (Photo G. Michel).

"L'herbe souterraine" … est-elle plus verte ailleurs ?

Le travail a démarré par un important volet de lecture et de recherches bibliographique afin de s'inspirer au mieux des méthodes d'évaluation existantes à l'étranger. Les mêmes constats reviennent souvent : dans l'ensemble des pays, le milieu souterrain, sa biodiversité et son extension restent très mal connus. Certaines cavités font (ou ont fait) l'objet de recherches très approfondies au cours du temps, mais extrapoler ces résultats ponctuels à l'ensemble d'un pays ou d'un massif calcaire reste très difficile.

Le relevé des menaces concernant cet habitat particulier, se focalise généralement sur la « destruction physique » de l'habitat (par les carrières, travaux d'infrastructure, barrages…) et sur le dérangement associé à une surfréquentation, dont sont souvent accusés les explorateurs de cavités ou les spéléos. L'impact pourtant majeur de l'occupation du sol, des pollutions diffuses et des activités en surface sur la qualité et l'intégrité de la cavité sont peu ou pas prises en compte… Probablement parce qu'ils sont difficiles a quantifier et encore plus compliqué à régler.

Le cas du **Trou d'Haquin** (une des 5 grottes test de cette étude) est à cet égard un bon exemple : cette grotte école, pourtant très fréquentée, ne s'est pas avérée plus pauvre biologiquement que les autres cavités étudiées.

Ce genre de constats permettent de relativiser l'incidence majeure que certains attribuent à la fréquentation des grottes sur la biodiversité souterraine.

Des échanges plus approfondis ont été réalisés avec les services responsables de ce reporting dans les régions et pays voisins (France, Allemagne, Luxembourg, Flandre).

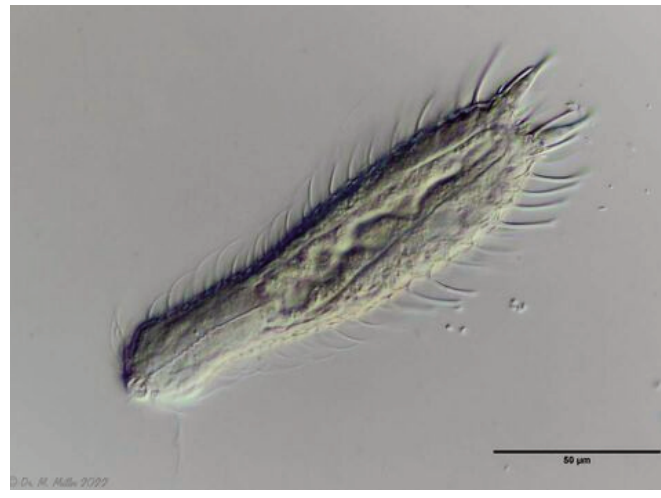

Figure 3: les Gastrotriches (comme ici une espèce du genre Chaetonotus) sont de petits vers de 0,1 mm à 4 mm de long, qui font partie de la faune interstitielle et habitent dans le sable et le gravier. Les analyses d'ADN environnemental ont détecté plusieurs espèces dans ce groupe (Photo M. Müller).

Ces échanges ont confirmé la très grande disparité dans les manières de procéder à cette évaluation. Ce que tous partagent par contre, c'est la grande difficulté d'établir une bonne évaluation quantifiée, exprimée sous la forme d'un indice globalisé à l'échelle de tout une région biogéographique, sur base de données très parcellaires et ponctuelles (informations provenant d'une cavité).

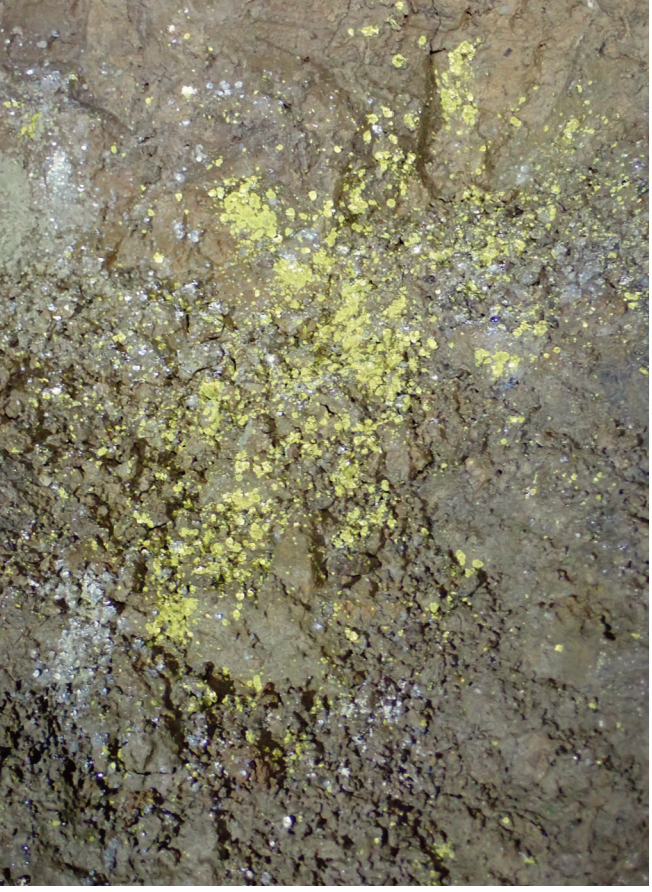

Figure 4: Contrairement aux autres habitats où les végétaux constituent la base de la chaine alimentaire, en grotte, cette base est principalement assurée par les bactéries (dont les celles qui se développent sur les parois comme ici) et sur les champignons (Photo P. Nyssen).

Une méthodologie “wallonne” basée sur différents paramètres

La lecture de la bibliographie existante a conduit à la sélection d’une série d’outils et de pratiques d’évaluation (physiques et biologiques) à mettre en œuvre. Afin de tester leur pertinence, les techniques de mesure et le matériel nécessaire in situ, une phase de test a été menée dans cinq grottes présentant des caractéristiques très différentes (Trou-qui-Fume à Furfooz, Grotte de Bohon à Durbuy, Trou d’Haquin à Assesse, Grotte des Collemboles à Comblain & Grotte Lyell à Engis). Nous vous présentons ici une partie des résultats.

La méthode se base d’abord sur la présence de micro-habitats dans la grotte : plages d’argile, gours, eau d’infiltration, eau courante, vase ou boue de sédimentation, matière organique (bois, déchets charriés par l’eau, guano...), racines, tas de cailloux… autant de milieux de vie accueillants, de supports potentiels ou de sources trophiques utiles à la vie souterraine.

La mesure des paramètres abiotiques (température ambiante, qualité physico-chimique de l’eau, composition de l’air…) permet de caractériser le milieu souterrain sur le long terme. L’étude de ces facteurs et surtout de leur stabilité dans le temps (au fil des jours, des saisons, des années et à long terme) permet d’estimer dans quelle mesure le milieu répond (ou non) aux besoins des animaux qui y vivent ou pourraient y vivre.

Enfin, nous avons voulu évaluer la richesse de la faune souterraine, sa diversité, la présence de taxons fortement liés au milieu souterrain ou présentant des adaptations marquées à la vie sous terre (troglophiles et troglobies)…

Cette évaluation de la faune souterraine est complexe en raison de la faible taille des populations (faible densité réduisant les chances de trouver les individus), du manque d’accès au milieu interstitiel où vivent certains de ces animaux et de la nécessité de recourir à des techniques de capture peu pratiquées. Ces limites sont rencontrées quelque soit la méthode d’échantillonnage utilisée. Une difficulté supplémentaire pour l’identification morphologique est la diversité des groupes taxonomiques rencontrés sous terre et le fait que la plupart de ces groupes soient assez peu - voire pas du tout – étudiés. La rareté (pour ne pas dire l’absence) de spécialistes pour l’identification morphologique de certains taxons ne permet pas toujours une identification jusqu’à l’espèce.

Enfin, en marge de l’évaluation de l’état de la grotte à proprement parler, il nous semble primordial de prendre en compte l’impact potentiel des activités en surface sur la conservation des sites souterrains. La méthode de calcul de cet impact se base sur l’occupation du sol et les sources de pollution connues. Une zone d’impact est délimitée autour de chaque grotte sur base de la topographie (bassin d’alimentation, bassin versant). Les activités en surface dans cette zone d’étude sont ensuite classées en quatre secteurs (agricole - forestier - industriel - urbain) analysés séparément, et mènent à un indice de risque.

Sur base des valeurs obtenues pour chacune des grottes, on peut proposer un niveau de risque (pression), associé à l’activité en surface, pour l’état de conservation des grottes naturelles wallonnes.

Recours à l’analyse ADN de la faune souterraine

Afin de tenter de pallier aux difficultés de détermination morphologique des espèces, nous avons testé le recours aux technologies “de pointe” d’identification d’ADN (barcoding, métabarcoding et ADN environnemental) appliquées aux organismes souterrains. Ce travail réalisé en collaboration avec le laboratoire de génétique de la conservation de l’ULiège visait à évaluer le potentiel de ces techniques lorsqu’il s’agit de réaliser biologiques en grottes. Le résultat est assez mitigé !

ADN environnemental

La récolte d’ADN environnemental dans l’eau est réalisée par filtration de gros volumes (plusieurs litres) à l’aide d’une pompe péristaltique montée sur un corps de foreuse, qui envoie l’eau dans une capsule filtrante.

Un test a été pratiqué dans l’eau courante (Ourthe souterraine dans la grotte de Bohon et Ourthe en surface peu avant son passage dans le parcours souterrain) et stagnante (eau de la nappe phréatique dans le trou du Lac à Comblain-au-Pont,

Figure 5: Les collemboles (comme ici une espèce de la sous-famille des Heteromurinae) sont fréquents en grotte, la liste des espèces troglobies de Belgique compte d’ailleurs 6 espèces de ce groupe. Nos tests d’identification par ADN, que ce soit sur des individus prélevés seuls ou avec d’autres espèces sont par contre très peu concluants pour ce groupe (Photo L. Haesen).

eau d'un grand gour suspendu dans la grotte de Bohon, eau d'une succession de petits gours et flaques toujours dans la grotte de Bohon).

Les résultats sont assez nets : sur les 5 capsules analysées, seules celles de l'Ourthe donnent une série de résultats, la technique ne semble pas pertinente pour l'eau stagnante, probablement en raison de la présence de trop faibles quantités d'ADN dans cette eau ou d'une technique d'amplification peu optimale pour les taxons en présence. Le nombre de brins d'ADN amplifiés est très faible comparativement à d'autres milieux et les espèces identifiées sont difficiles à valider : Rotifères principalement, avec quelques Gastrotriches, Copépodes et Branchiopodes. Pour les capsules d'eau de l'Ourthe, l'eau de surface mène à une liste de 39 taxons dans une série de groupes taxonomiques, l'eau souterraine 24 taxons, dont 13 taxons communs aux deux. L'analyse de terre (boue, sédiments) a permis de compléter l'évaluation en matière de recherche d'ADN environnemental.

Trois échantillons de sédiments prélevés au fond de gours ou de flaques (dont deux où des Niphargus vivants ont été observés le jour de la récolte) n'ont donné que très peu de résultats. La présence de Niphargus n'a pas été détectée par cette technique et les résultats s'apparentent à ceux de l'eau stagnante, à savoir très peu de séquences lues, des taxons peu observables (Rotifère, Ostracode, Copépode et Branchiopode) souvent identifiés de manière peu précise (rang taxonomique élevé, telle que classe ou ordre par exemple). Les sédiments prélevés en bord d'Ourthe souterraine révèlent du castor, un fond de piège aquatique permet d'identifier un bivalve invasif effectivement observé sur site ainsi que des espèces de vertébrés présentes dans l'eau de l'Ourthe, mais il y a très peu de résultats côté invertébrés.

Barcording et métabarcoding

Pour ces analyses, des animaux vivants ont été prélevés sur site et directement placés dans l'éthanol pour conservation. Dans le cas des échantillons destinés au barcoding, un individu a été placé dans un tube puis soumis à l'analyse. D'autres échantillons rassemblant plusieurs individus de groupes taxonomiques différents (entre 2 et 5 espèces) ont été analysés avec la technique du métabarcoding.
Sur 21 échantillons analysés en barcoding, 14 mènent à une identification spécifique qui semble correspondre à ce qui a été placé dans le tube. La capacité d'identification à l'aide de séquences ADN est bluffante dans ce cas, avec notamment des résultats dans de petits groupes assez méconnus tels que les archéognathes (lépismes), certains mollusques, des araignées, mais aussi différents groupes d'insectes ou encore des cloportes. Néanmoins, pour un tiers des échantillons, soit l'analyse ne donne aucun résultat (pas d'ADN amplifié) soit le résultat n'est pas probant (trop faible certitude d'identification ou espèce identifiée qui ne correspond pas à celle récoltée).

En matière de métabarcoding, sur 18 échantillons (14 tubes de base + 4 d'abord traités en barcoding, qui n'ont rien donné et ont été réanalysés avec cette technique), 9 ne donnent aucun résultat. Pour les 50% restants, lorsque plusieurs espèces étaient présentes dans le tube, la majorité des analyses détectent correctement 1 ou 2 espèces, le reste des taxons est absent des résultats.

Il est également interpellant de constater que plusieurs analyses mènent à la détection d'une espèce qui n'a pas été collectée dans l'échantillon en question. Il peut bien entendu s'agir d'une contamination ou de restes de proies consommées dans le système digestif de l'animal récolté, mais ce résultat pose question quant à son interprétation. Quant à l'absence de certaines espèces pourtant récoltées dans les résultats, il peut s'agir d'un

Figure 6: Pour faire des analyses d'ADN environnemental, plusieurs litres d'eau sont filtrés à l'aide d'une pompe péristaltique, les fragments d'ADN ou les éléments organiques sont retenus dans un filtre contenu dans la capsule blanche (Photo J. Demaret).

problème de disponibilité des séquences de référence dans les banques de données mondiales d'ADN ou encore d'amplification qui fonctionne mal pour certains groupes (primer mal adapté, ADN moins disponible ou moins bien amplifié pour certains taxons que pour d'autres).
Même si le nombre d'échantillons est faible pour en tirer des conclusions, il est également problématique de constater que pour des groupes potentiellement indicateurs de la qualité du milieu souterrain tels que les Collemboles, Amphipodes (groupe des Niphargus) et Acariens, l'identification ADN des échantillons confiés au labo de l'ULg fonctionne mal (absence de résultat ou identification à un niveau supra-spécifique peu utile dans ce contexte).

La conclusion n'est pas simple à tirer, mais on retiendra qu'en contexte de milieu souterrain et sur base de ces premiers tests (qui méritent certainement de nouvelles tentatives en affinant les techniques de prélèvements mais aussi d'amplification), les analyses ADN à base d'individus vivants récoltés sur site fonctionnent mieux que la tentative de trouver des traces d'ADN dans l'environnement (eau, terre, etc). Lorsqu'on travaille sur base de matériel frais, une part trop importante des échantillons ne donne pas les résultats escomptés, probablement pour différentes raisons. Les pistes d'amélioration sont multiples.

Tout d'abord, un travail conséquent doit être fait pour compléter les bases de données ADN avec des séquences d'individus préalablement identifiés sur base morphologique. Ensuite, des tests visant à valider les processus de laboratoire et adapter les pratiques aux spécificités du monde souterrain devraient être réalisés avec attention et une bonne dose de remise en question des résultats obtenus.

Premiers éléments de suivi à long terme de la température

Un des paramètres physiques particuliers du milieu souterrain, en dehors de l'évidente absence de lumière, concerne la température et le degré d'humidité, qui sous nos latitudes sont beaucoup plus stables en grotte au cours de l'année que les fluctuations extérieures. Une perturbation de cette stabilité peut avoir des impacts sur l'écosystème souterrain et sur les organismes qui l'occupent. Mesurer la température de manière ponctuelle peut avoir son intérêt pour repérer des poches d'air chaud ou des pièges à froid, mais ce sont les variations au cours de l'année (et même sur des cycles plus longs) qui sont indicatrices d'une possible perturbation et/ou de l'incidence de l'extérieur sur le profil thermique dans la grotte. Vu les changements climatiques en cours et leur impact sur la biodiversité, ces suivis de températures dans tous les milieux sensibles tel que l'habitat "grottes" sont particulièrement pertinents

Dans les 5 grottes tests, des sondes de température de type « niphargus » (produites par l'IRSNB et déjà testées a de multiples reprises et avec succès dans des cavités) ont été placées à différents endroits afin de monitorer les micro-climats intérieurs mais aussi d'estimer les flux d'airs sur base de cette différence de température. Voici un premier aperçu des résultats sur 2 sites (Grottes des Collemboles et de Bohon), un article complet sera proposé dans l'Ecokarst prochainement pour une vue d'ensemble.

Ces premiers éléments nous permettent d'illustrer le lien entre les températures atmosphériques (données horaires provenant de la station Pamseb située à Ferrières) et ce qui est mesuré sous terre.

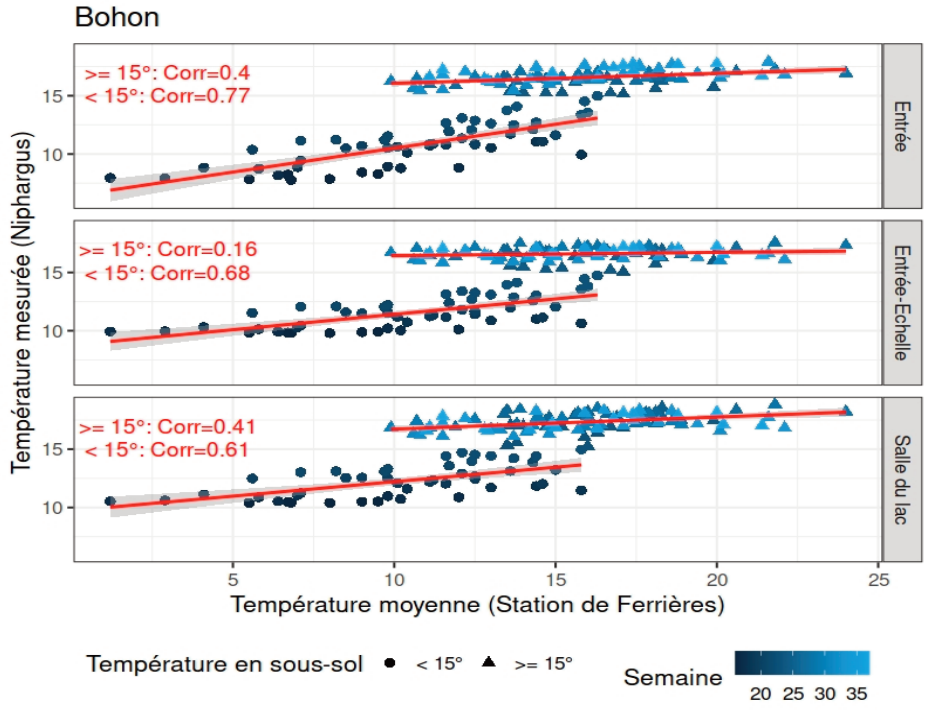

Fig. 7. Relation de la température dans trois secteurs différents de la grotte de Bohon avec la température atmosphérique (station de Ferrières). Un gradient de couleur représente les semaines successives et les symboles (points ou triangles) mettent en évidence deux conditions de température bien contrastées sous ou au-dessus des 15°. Les droites rouges représentent la régression linéaire pour chaque groupe, avec leurs coefficients de corrélation respectifs.

Pour le **réseau des Collemboles** à Comblain-au-Pont, la sonde placée au milieu de réseau ("intérieur") présente une belle stabilité de la température, avec une variation de l'ordre du centième de degré. Le capteur proche de l'entrée, mesure des évolutions au fil des semaines en correspondance avec l'extérieur (Fig. 8).

Dans la **grotte de Bohon**, la température est également très variable et fortement influencée par la température extérieure et probablement par celle du bras souterrain de l'Ourthe qui traverse la cavité. Sur le graphique 7, deux phases sont observables. Jusque la semaine 23 (première semaine de juin) la température est toujours inférieure à 15 degrés et fortement corrélée à la température extérieure, et ce quel que soit le secteur : "entrée", "entrée-échelle" (soit quelques mètres plus bas) ou "Salle du lac".
Cette corrélation diminue fortement après la 23ème semaine, alors que la température intérieure dépasse 15 degrés. De manièretrès intéressante, l'indice de corrélation est toutefois comparable à l'entrée et dans la "Salle du lac" (Corr ~ 0.4) alors qu'elle est quasi inexistante (Corr = 0.16) au niveau de l'échelle.

La température dans la salle du lac serait fortement influencée par celle de l'eau.

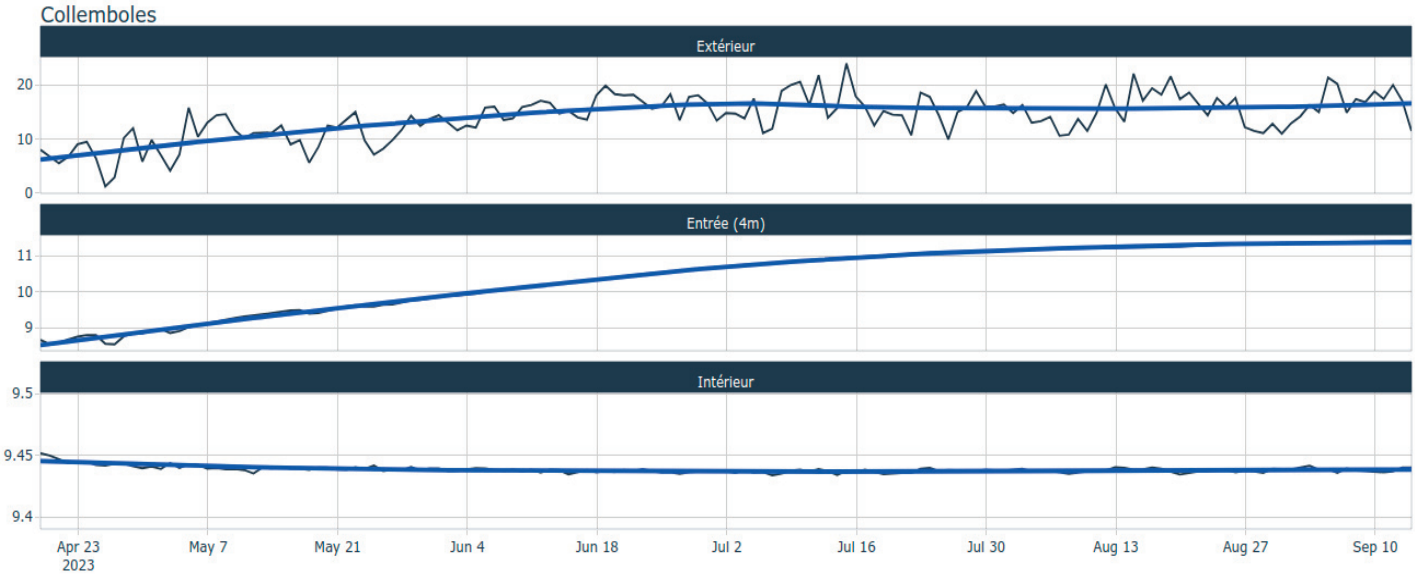

Fig. 8. Profils de températures en surface à la station de Ferrières (haut), à l'entrée de la grotte (milieu) et dans la zone profonde (bas). Les échelles des températures sont adaptée pour chaque localisation, variant de plus de 25 degrés à l'extérieur et de moins de 0.01 degrés dans la zone profonde.

Figure 8: Pour effectuer un suivi à long terme de la température en différents endroits stratégiques de la grotte, des sondes « Niphargus » sont laissées (cachées) sur site pendant plusieurs mois (Photo G. Michel).

Pourrait-il s'agir des effets de changements de flux d'air ?Il ne s'agit ici que d'une première approche et de nombreuses questions restent à creuser. Parmi celles-ci se trouvent le temps de retard d'une fluctuation saisonnière entre le sous-sol et l'extérieur, la périodicité des fluctuations journalières et saisonnières, ou encore l'effet d'évènements comme une fonte de neige "brutale" par exemple.

La morphologie de la cavité joue aussi un rôle majeur : selon que la grotte présente plusieurs entrées, qu'elle a un développement vertical induisant des différences de pression ; des flux d'air vont être générés. Les grottes qui selon la saison soufflent du chaud ou du froid (comme les nombreux "trou-qui-fume") sont fréquentes dans les massifs calcaires. Ces premières observations confirment en tous les cas la température est une des variables intéressantes et intégratives à suivre pour approcher la dynamique karstique.

Conclusion

La méthodologie d'évaluation de l'état de conservation de l'habitat 8310 développée dans ce contexte vise à proposer une approche pragmatique, avec un ratio cout/bénéfice réduit.

Ce sont les services du SPW qui vont maintenant devoir se l'approprier et le mettre en œuvre à l'échelle de la Wallonie. Ils ont la charge du monitoring de tous les habitats et espèces sur notre territoire ! Ce n'est pas une mince affaire…

Les structures qui ont contribué à ce débroussaillage de la matière sont en train de transmettre le flambeau au SPW, espérant avoir apporté des réponses (au moins partielles) appropriées aux nombreuses questions ouvertes en début de marché.

Remerciements

Nous profitons de cet article pour remercier toutes les personnes, spéléos, clubs, administrations, asbl, laboratoires, ... qui ont contribué à cette étude depuis son lancement !

P. Nyssen et JF Godeau (Ecofirst)
N. Goffioul & L. Haesen (Masepas)
& G. Michel (CWEPSS)

CONVOCATION À L'ASSEMBLÉE GÉNÉRALE 2024 DE LA CWEPSS

Sart Tilman / CRU – ULiège Sport, dimanche 28/04/2024 dès 10h00

La CWEPSS a le plaisir de vous inviter à son Assemblée Générale le 28/04/2024 dès 10h00. Cette année nous sommes invités par le RCAE (célèbre club spéléo de la région Liégeoise, par ailleurs associé à l'Université) dans les locaux du Club House de la section sport… mieux connu sous l'appellation **CRU**.

L'adresse du jour est Université de Liège / Sart Tilman – **Le CRU, Quartier Village 2, rue de l'Aunaie 24 à 4000 Liège**. Cet espace convivial est mis à la disposition des associations sportives liées à l'Université. Il est le cadre de nombreuses réunions, fêtes et autres moments conviviaux restés dans les mémoires et nous espérons bien que notre AG ne dérogera pas à la règle !

Nous espérons que nos membres effectifs seront présents en force. Nous invitons les adhérents et les personnes intéressées par le Karst à assister à l'AG et surtout à la promenade karstique qui est prévue début d'après midi.

Ordre du jour de l'Assemblée Générale

1. *Appel des membres effectifs présents et représentés.*
2. *Approbation du procès-verbal de l'A.G. organisée à Sprimont le 23 avril 2023. Document transmis par E-mail aux membres effectifs au préalable.*
3. *Nouveaux locaux de la CWEPSS situés à Jambes depuis janvier 2024 : secrétariat permanent, bibliothèque et salle de réunion.*
4. *Rapport d'activités menées à terme en 2023 et projets en cours, avec un focus sur Epukarst 2 débuté le 16 janvier 2024*
5. *Présentation et approbation des comptes de résultat 2023, du bilan au 31/12/2023 et du budget 2024.*
6. *Décharge aux administrateurs pour l'année 2023.*
7. *Renouvellement du CA et nomination des administrateurs. Tous les administrateurs ayant, démarré un nouveau mandat de 3 ans l'année passée (AG Statutaire), personne n'est sortant.*
8. *Divers.*

PLan d'accès et parkings autour de la salle du CRU ou se déroulera l'AG.