

MARCHÉ PUBLIC

DÉVELOPPEMENT D'UNE MÉTHODE
DE DÉTERMINATION DE L'ÉTAT DE
CONSERVATION DE L'HABITAT NA-
TURA 2000 « CAVITÉS SOUTERRAINES
NATURELLES » ET DE SURVEILLANCE/
SUIVI EN WALLONIE

8310



SYNTHÈSES BIBLIOGRAPHIQUES



Ecofirst
Biodiversity & Forest Engineering



Colophon

Synthèse biblio (et étude) réalisées par

1. Ecofirst

Société Coopérative (SC)
n° immatriculation BCE : BE-0692 806 959
ayant son siège Grand'rue 12 – 6870 Awenne (Belgique)
Contact général :

- Gérard Jadoul +32 498 54 42 40 gerard.jadoul@ecofirst.eu

Personnes de contact pour ce dossier :

- Pierrette Nyssen +32 473 265 264 pierrette.nyssen@ecofirst.eu
- Jean-François Godeau +32 472 944 847 jf.godeau@ecofirst.eu



en association avec

2. Maison de la Spéléologie et du Patrimoine Souterrain

association sans but lucratif (ASBL)
n° immatriculation BCE : BE-0418 589 147
ayant son siège Avenue Arthur Procès, 5 - 5000 Namur (Belgique)
Personnes de contact pour ce dossier :

- Loran Haesen +32 497 42 89 24 loran@speleo.be
- Nathalie Goffioul nathalie@speleo.be



et avec

3. Commission Wallonne d'Etude et de Protection des Sites Souterrains

association sans but lucratif (ASBL)
n° immatriculation BCE : BE-0425 871 570
ayant son siège : Clos des pommiers, 26 - 1310 la Hulpe (Belgique)
Contact général :

- Gerald Fanuel - Président de la CWEPSS

Personne de contact pour ce dossier :

- Georges Michel +32 486 42 04 35 cwepss@gmail.com



dans le cadre d'un marché public

IPE 002 BNIP - Cahier spécial des charges n° 03.05.02-18H273

Marché public de services visant au développement d'une méthode de détermination de l'état de conservation de l'habitat Natura 2000 "Cavités souterraines naturelles" (8310) et de surveillance/suivi en Wallonie dans le cadre du projet LIFE intégré

émis par le

Service Public de Wallonie - DNF

Adjudicateur : La Région wallonne, représentée par son Gouvernement en la personne de La Région wallonne, représentée par son Gouvernement en la personne Madame Céline Tellier, Ministre de l'Environnement, de la Nature, de la Forêt, de la Ruralité et du Bien-Être animal



Service/Direction responsable de la gestion du marché : Service Public de Wallonie Agriculture, Ressources naturelles et Environnement
Département de la Nature et des Forêts
Direction de la Nature et des Espaces Verts
Adresse postale : Avenue Prince de Liège 15, 5100 Jambes (BELGIQUE)

Personne de contact pour ce dossier :

- Eric Joiris +32 470 61 18 77 Eric.joiris@spw.wallonie.be

dans le cadre du

LIFE BNIP

LIFE intégré - Belgian Nature Integrated Project



et géré en collaboration avec le

DEMNA

Service Public de Wallonie Agriculture, Ressources naturelles et Environnement
Département de l'Etude du Milieu naturel et agricole
Adresse postale : avenue de la Faculté d'Agronomie, 22 - 5030 Gembloux (BELGIQUE)
Personnes de contact pour ce dossier :

- Quentin Smits +32 477 53 88 81 quentin.smits@spw.wallonie.be
- Jean-Louis Gathoye +32 478 69 16 93 jeanlouis.gathoye@gmail.com
- Lionel Wibail +32 471 91 27 45 lionel.wibail@spw.wallonie.be

Mise en page : Julien Adans

Crédit photos : Vincent Gerber, Gaetan Rochez, Janssens-Dethier.

Table des matières

PARTIE 01 : **SYNTHÈSE DES PRATIQUES POUR L'ÉVALUATION ARTICLE 17** **POUR LES PAYS VOISINS DE L'UE**

1. Introduction	Page 5
2. Définition de l'habitat 8310 : quels sites faut-il considérer ?	Page 5
3. Les méthodes utilisées pour évaluer l'état de conservation	Page 6
3.1 Wallonie	Page 6
3.2 Flandre	Page 7
3.3 Luxembourg	Page 7
1 La biodiversité	Page 8
2 Les structures de l'habitat	Page 9
3 L'impact humain	Page 9
3.4 Allemagne	Page 9
3.5 France	Page 10
4. Conclusion	Page 11

PARTIE 02 : **DESCRIPTION GÉNÉRALE DU MILIEU SOUTERRAIN**

1. Définition du concept de "grotte non accessible au public" et son statut "d'habitat prioritaire 8310"	Page 15
2. Pourquoi le concept de "grotte non accessible au public" est-il trop restrictif pour bien protéger les écosystèmes souterrains ?	Page 15
3. Spécificités de l'habitat "grottes" en Wallonie	Page 18
3.1 Karst & karstification	Page 18
3.2 Caractéristiques des grottes en tant qu'habitat	Page 19
3.2.1 Spécificités micro-climatiques	Page 19
3.2.2 Cavités statiques ou dynamiques	Page 19
3.2.3 La diversité en micro-habitats influence la biodiversité	Page 20
3.2.4 Typologie des micro-habitats et des guildes biologiques associées	Page 21
3.3 Tableau des micro-habitats et report cartographique	Page 22
4. Méthodologie de calcul pour les surfaces, les longueurs et l'extension géographique (range) de l'habitat 8310	Page 24
4.1 La notion de "Area" (superficie de l'habitat)	Page 24
4.1.1 Estimation de superficie d'un habitat Natura 2000	Page 24
4.1.2 Problèmes pour estimer la superficie du milieu souterrain	Page 25
4.1.3 Estimation de la superficie : calcul appliqué aux réseaux de grottes en Wallonie	Page 25
4.1.4 Une superficie d'habitat très peu variable	Page 26
4.2. La notion de "Range" - application au milieu souterrain en Wallonie	Page 27
5. Conclusion	Page 27
Annexe 1 : Différents habitats souterrains (hors 8310) pouvant abriter une biodiversité cavernicole important	Page 28

PARTIE 03 : **VARIABLES ABIOTIQUES À SUIVRE POUR CARACTÉRISER LE BON ÉTAT DES HABITATS SOUTERRAINS**

1. Introduction	Page 33
2. La température : variable essentielle du climat souterrain	Page 34
2.1 La température comme variable pivot	Page 34
2.1.1 Facteurs ayant une incidence sur le température des cavités	Page 35
2.1.2 Intérêts de suivre les températures pour évaluer l'état de l'habitat souterrain	Page 36
2.2 Méthode et suivi à proposer pour les températures en grottes	Page 37
3. Evaluation de la qualité des eaux souterraines	Page 37
3.1 Introduction	Page 37
3.2 Paramètres physico-chimiques	Page 38
3.2.1 la turbidité (transparence)	Page 38
3.2.2 la température	Page 39
3.2.3 la conductivité et la dureté de l'eau	Page 39
3.2.4 le pH (mesure de l'acidité de l'eau)	Page 40
3.2.5 l'oxygène dissous (O ₂)	Page 41
3.2.6 le potentiel d'oxydo-réduction (ORP)	Page 41
3.2.7 la matière organique (MO)	Page 42
3.2.8 l'azote sous ces différentes formes chimiques (NH ₄ , NO ₂ , NO ₃)	Page 42
3.2.9 le phosphore et les phosphates	Page 44
3.3 Micropolluants & Bactériologie	Page 45
3.3.1 les métaux lourds	Page 45
3.3.2 les pesticides	Page 45
3.3.3 les micropolluants organiques et polluants « émergents »	Page 46
3.3.4/ les paramètres bactériologiques	Page 46
3.4 Paramètres prioritaires à suivre dans les eaux souterraines	Page 47
4. Paramètres à analyser dans l'air en grotte (phase gazeuse)	Page 48
4.1 Introduction	Page 48
4.2 Composition de l'atmosphère et seuil pour certains gaz	Page 48
4.2.1 La concentration en O ₂ – OXYGÈNE	Page 49
4.2.2 Le CO ₂ – DIOXYDE DE CARBONE	Page 50
4.2.3 H ₂ S – Hydrogène sulfuré	Page 52
4.2.4 CO – Monoxyde de carbone	Page 52
4.2.5 le radon (gaz lourd et radioactif)	Page 53
4.3 paramètres prioritaires à suivre dans l'atmosphère des grottes	Page 54

PARTIE 04 : **VARIABLES BIOTIQUES À SUIVRE POUR CARACTÉRISER LE BON ÉTAT DES HABITATS SOUTERRAINS**

1. Introduction	Page 57
2. Aperçu de la vie souterraine	Page 57
2.1 Les troglaxènes / stygaxène	Page 57
2.2 Les troglaphiles / stygaphiles	Page 58
2.3 Les troglobies / styglobies	Page 58
2.4 Biodiversité microbienne	Page 60
2.5 Sélection des groupes à échantillonner dans le contexte wallon	Page 60
2.5.1 Discussion sur la pertinence de la prise en compte des chiroptères dans l'évaluation de l'état de conservation de l'habitat 8310	Page 61
2.5.2 La faune cavernicole hors chiroptères	Page 61

3. Techniques d'échantillonnage de la faune invertébrée	Page 62
3.1 Pourquoi et comment étudier et récolter des organismes souterrains ?	Page 63
3.2 Que faut-il échantillonner et quelles informations sont nécessaires ?	Page 63
3.3 Échantillonnage de la faune	Page 64
3.4 Méthodes d'échantillonnage de la faune terrestre	Page 64
3.4.1 La recherche manuelle	Page 64
3.4.2 L'appâtage	Page 65
3.4.3 Sac de litière forestière	Page 65
3.4.4 Le piège à fosse (pitfall) à appât	Page 65
3.4.5 Berlèse	Page 65
3.4.6 Autres méthodes	Page 65
3.5 Méthodes d'échantillonnage de la faune aquatique	Page 66
3.5.1 Filet à main	Page 66
3.5.2 Pièges aquatiques à appât	Page 66
3.5.3 Sac de litière immergé	Page 66
3.5.4 La collecte à l'aide de bouteilles 'Brancelj'	Page 66
3.6 Équipement	Page 67
3.6.1 Les récipients et le liquide conservateur	Page 67
3.6.2 Les étiquettes	Page 67
3.6.3 Base de données	Page 67
4. Techniques d'identification	Page 67
4.1 Identification morphologique	Page 67
4.2 Identification génétique	Page 68
4.2.1 Identification sur base d'ADN environnemental (ADNe ou eDNA en anglais) pour l'évaluation de la biodiversité souterraine	Page 68
4.2.2 Identification sur base d'individus collectés sur le terrain (barcoding ou méta-barcoding)	Page 69
5. Aperçu des coûts	Page 71
6. Conclusion et recommandations	Page 72
Annexe 1 : Liste des espèces considérées comme troglobies présentes en Belgique	Page 73

PARTIE 05 :
ETAT DU MILIEU SOUTERRAIN EN WALLONIE
MENACES ET MESURES DE PROTECTION

1. Introduction	Page 77
2. La destruction directe de l'habitat	Page 78
3. Impacts indirects liés aux activités en surface	Page 79
4. La surfréquentation des cavités	Page 82
5. Les espèces invasives et accidentelles	Page 83
5. Les changements climatiques	Page 84
6. Conclusion	Page 86
BIBLIOGRAPHIE	Page 88



SYNTHÈSE DES PRATIQUES POUR L'ÉVALUATION ARTICLE 17 POUR LES PAYS VOISINS DE L'UE

Revue bibliographique critique sur l'état des connaissances
dans les régions voisines

1 Introduction

Les états membres de l'Union Européenne doivent rapporter tous les 6 ans à la commission européenne sur l'état de conservation des habitats listés dans l'annexe I de la Directive Habitats Natura 2000 92/43/EEC. L'habitat 8310 "Grottes naturelles non touristiques" en fait partie. Malgré des guidelines communes, tant pour la définition de l'habitat que la méthodologie à appliquer pour le rapportage, de nombreuses différences s'observent d'un pays à l'autre (voire d'une région biogéographique à l'autre dans un même pays). La simple définition de ce qui est considéré comme faisant partie de l'habitat 8310 est variable, mais également ce qui est évalué (mesuré) dans les sites, à quelle fréquence et comment ces mesures mènent à un état de conservation. Les ressources qui y sont allouées et les structures/personnes en charge de ce monitoring sont également très variées : expert indépendant, club ou fédération spéléo, institut de recherche, musée, ONG, chiroptérologue, parc national, administration régionale ou ministère. Le 6th EuroSpeleo Protection Symposium qui s'est tenu en octobre 2021 sur ce sujet du monitoring de l'habitat

8310 dans le cadre de la Directive Habitats a permis de mettre en lumière et de documenter cette très grande variation dans les activités de monitoring qui sont menées dans les différents pays de l'UE. L'article rédigé par Weigand et al. (2022) résume les différents éléments importants évoqués durant ce colloque.

2 Définition de l'habitat 8310 : quels sites faut-il considérer ?

Selon le manuel d'interprétation des habitats de l'Union Européenne, l'habitat 8310 est défini comme "*Caves not open to the public, including their water bodies and streams, hosting specialised or high endemic species, or that are of paramount importance for the conservation of Annex II species (e.g. bats, amphibians).*" (European Commission, 2013)

Sur base de cette définition, ce qui relève ou non de l'habitat 8310 est interprété différemment selon les pays. La plupart des pays ne considèrent dans l'habitat 8310 que des grottes naturelles, d'autres (comme la Flandre en Belgique) incluent des sites d'origine anthropique. La taille minimale d'un trou dans le sol requise pour qu'il soit considéré comme une grotte varie également selon les pays, généralement entre 1 m et 10 m de développement. Certains pays (dont la France) ne considèrent que des sites où aucune exploitation touristique n'existe alors que d'autres estiment que des portions de réseaux sauvages dans des sites où une partie est ouverte aux visiteurs relèvent de cet habitat 8310. Si la plupart considèrent (quasi) uniquement des grottes d'origine karstique, certains autres types de cavités sont inclus dans cet habitat dans certains pays, comme des grottes de grès en Lettonie par exemple (Ozols, 2021).

La notion de présence de faune spécialisée et endémique que l'on retrouve dans la définition de la commission Européenne entraîne dans certains pays des Alpes dinariques, où la faune souterraine est très riche et très diversifiée,

une catégorisation des cavités sur base de leur faune. En Croatie par exemple, un site est considéré comme habitat 8310 s'il se trouve dans un site Natura 2000 dont un des objectifs de conservation vise une espèce cavernicole des annexes II ou IV de la directive Habitats (ex: *Leptodirus hochenwartii*, *Proteus anguinus*, *Congerius kusceri*, *C. jazici*). Les sites reconnus par Eurobats "d'importance internationale pour les chauves-souris" sont inclus aussi. Le second critère utilisé pour considérer une grotte comme habitat 8310 en Croatie est la présence de minimum 10 espèces troglobies/stygobies ou minimum 5 espèces stygobies (Dud, 2021).

• Pour la Wallonie, l'application de critères de présence de faune endémique ou troglobie abondante pour identifier l'habitat 8310, que ce soit en région atlantique ou continentale, disqualifierait la (quasi-)totalité des grottes, ce qui n'est pas envisageable. Par ailleurs, aucun invertébré cavernicole visé par les annexes II ou IV de la directive n'est connu dans nos grottes. Seules les chauves-souris sont visées par la directive et se retrouvent sous terre; elles font déjà l'objet d'un suivi régulier et d'une évaluation dans le cadre du monitoring "article 17". Nous proposons de nous en tenir à une définition liée à l'habitat plutôt qu'aux espèces qui l'occupent. L'interprétation des flamands qui incluent des sites artificiels d'origine anthropique (telles que des carrières) nous semble erronée au vu du manuel d'interprétation de la commission européenne. Nous considérerons donc comme habitat 8310 en Wallonie **tous les sites souterrains naturels (grottes) de plus de 5 m de développement, d'origine karstique ou assimilé (tels que décrits dans l'atlas du karst wallon), qui ne sont pas (ou plus) ouverts au public¹ ou, pour les grottes partiellement ouvertes au public, les portions de réseau qui ne sont pas visitées.**

Par ailleurs, l'habitat 8310 concerne également le milieu interstitiel (noyé ou non) et les nappes et courants d'eau souterrains (référence vers la synthèse biblio description des sites.... dès qu'elle existera). Assez logiquement, le monitoring devra être limité aux parties pénétrables des souterrains, de même que

l'évaluation de l'état de conservation des grottes, qu'on considère comme un reflet de la santé de l'ensemble du milieu souterrain.

3 Les méthodes utilisées pour évaluer l'état de conservation

D'une manière globale, la plupart des pays européens rapportent sur l'état de conservation de l'habitat 8310 sur base d'extrapolations à partir de données partielles, que ce soit pour l'évaluation de la distribution, de la répartition et de l'état de conservation de l'habitat. Ce dernier point présente le plus grand taux de données manquantes et d'estimations basées sur avis d'expert (Erhard, 2021).

Dans la plupart des pays, les données et évaluations reposent sur avis d'expert, avec une quantité souvent très limitée de données collectées de manière systématique. Cela autorise, pour les différentes structures qui mènent l'évaluation, une grande liberté dans la méthodologie, mais d'un autre côté, cela crée une hétérogénéité significative dans l'évaluation de l'état de conservation entre pays. Beaucoup de pays font état des difficultés en lien avec de grosses lacunes dans les connaissances, un manque de ressources et des difficultés d'accès à certaines données importantes pour les personnes en charge du rapportage.

La méthodologie actuellement utilisée en Wallonie et dans les régions/pays voisins est détaillée ci-dessous. Le choix de porter notre attention sur les pays voisins de la Wallonie permet de comparer avec une situation analogue à celle de la Belgique, tant au niveau du type de sites, que de leur faune. Les pays qui n'ont pas ou très peu de grottes (par exemple les Pays-Bas) ou les pays qui présentent une richesse faunistique cavernicole très supérieure à celle observée en Belgique (par exemple la Croatie et la Bosnie-Herzégovine) n'ont pas fait l'objet d'une analyse détaillée dans ce contexte.

3.1 Wallonie

En Wallonie, l'évaluation des habitats est réalisée par le DEMNA (actuel responsable pour l'habitat 8310 : Quentin Smits) et repose sur l'étude des 4 paramètres indépendants, tel que le prévoient les guidelines de la CE pour le rapportage article 17:

¹On peut considérer la période de rapportage (6 ans) comme période de référence pour l'accessibilité au public. Tout site (toute portion de site) dont l'accès au public s'arrête en année X peut donc être considéré comme habitat 8310 dans la période de rapportage suivante, c'est-à-dire qui commence après l'année X. Tout site (toute portion de site) dont l'accès au public commence en année X peut donc être considéré comme habitat 8310 dans la période de rapportage précédente, c'est-à-dire qui termine avant l'année X.

range; surface; structure and functions; future prospects. Ces paramètres sont ensuite agrégés pour donner une cote finale qui est la cote du paramètre le moins favorable.

Pour calculer le range (= aire de distribution), on prend la somme des carrées 10x10 km occupés par une ou plusieurs grottes, sur base de l'atlas du karst wallon (AKWA). La surface occupée par l'habitat est calculée en multipliant la somme des développements des grottes (sur base de l'AKWA) par une largeur théorique moyenne de 4 m. Ceci signifie qu'on ne tient pas compte des développements interstitiel et noyé des cavités. Jusqu'à présent, le paramètre structure et fonctions n'a pas vraiment été évalué en Wallonie. Le bon état général des chauves-souris pourrait être pris en compte, mais le DEMNA considère que les chauves-souris ne sont pas les seuls indicateurs, et qu'il est difficile de différencier les évolutions des populations dans le karst par rapport aux autres types de cavités. En termes de perspective future, l'évaluation repose sur avis d'expert, est très subjective et se base sur l'équilibre entre les pressions / menaces et les mesures de protection. Il serait sain de progresser vers une utilisation d'arguments plus objectifs pour une meilleure évaluation.

3.2 Flandre

En Flandre, c'est l'INBO qui se charge de l'évaluation de l'état de conservation des habitats. Steven de Saeger est actuellement responsable de différents habitats dont les cavités. Des carrières de Tuffeau creusées par l'homme sont prises en considération pour l'habitat 8310. Plusieurs sites non accessibles au public, localisés sur 2 communes à l'extrême sud-est de la région, importants pour la conservation des chauves-souris, sont pris en compte.

Leur évaluation est très centrée sur les chauves-souris et porte uniquement sur un avis d'expert. Très peu de moyens sont alloués à cet habitat tout à fait marginal en Région flamande. Le seul monitoring structuré dans ces sites est constitué d'inventaires hivernaux de chauves-souris, mais vu le conflit qui existe (existait ?) entre la région flamande et Natuurpunt, l'INBO ne peut pas utiliser les chiffres des comptages de chiroptères pour le rapportage.

En pratique, l'avis d'expert se traduit par un questionnaire, rempli par 2 personnes (Ghis

Palmans, responsable des inventaires chauves-souris et Mike Lahaye de l'administration communale de Riemst) pour chaque carrière

considérée. Ce questionnaire reprend les principales menaces listées par l'Europe pour les habitats et demande aux experts d'évaluer le niveau de chaque menace et pour chaque site. Ces menaces sont principalement extérieures au site, comme par exemple la disparition des petits éléments du paysage, l'activité agricole autour / au-dessus de la cavité, la pollution de l'air (à l'entrée ou à l'extérieur), le danger d'effondrement, les travaux intérieurs, le vandalisme. Seules les menaces considérées comme élevées par les experts sont rapportées à l'Europe.

La surface de l'habitat était jusqu'à présent évaluée en sommant tous les périmètres des carrières, mais un calcul basé sur la surface réelle des galeries est en projet.

3.3 Luxembourg

La méthodologie pour le monitoring et l'évaluation de l'habitat 8310 au Grand-Duché de Luxembourg a été conçue par Alexander Weigand (conservateur au Musée National d'Histoire Naturelle du Luxembourg - MNHNL), en adaptant le système utilisé en Allemagne. Ce travail d'évaluation des écosystèmes souterrains, mené par le MNHNL sur demande du ministère de l'environnement, inclut l'habitat 8310, mais aussi les mines, carrières et autres sites souterrains artificiels.

L'évaluation de l'habitat 8310 n'est opérationnelle que depuis 2 ans environ au Luxembourg. La sélection initiale est de 10 grottes pour le Luxembourg (soit 5 à 10 % des grottes du pays), sélectionnées pour leur bonne représentativité géographique, la variété des types et tailles de grottes et l'ampleur des pressions anthropiques qui pèsent sur cet habitat. Le MNHNL a pour projet de rajouter quelques (5 à 10) nouvelles grottes par an pour constituer une meilleure base d'évaluation.

En termes d'échantillonnage, les grottes sont visitées 4 fois par an : deux fois en hiver (mettre en place les pièges + récolter les pièges) et deux fois en été (idem). Cette saisonnalité est très importante si on veut inclure les hôtes temporaires des cavités (trogloxènes) dans l'évaluation de la biodiversité locale.

L'objectif est d'avoir 3 années complètes d'inventaire sur un cycle de rapportage de 6 ans.

Les données récoltées sont consignées dans une fiche d'encodage (pdf) ou via l'application sur smartphone (CaveLife App) développée au départ en Allemagne et qui a été adaptée pour les besoins du Luxembourg. Ce formulaire contient des données de base (nom du site, localisation administrative, coordonnées, ...), et les résultats du monitoring de l'habitat 8310, qui repose sur 3 piliers :

1. la biodiversité, avec une évaluation de l'habitat basée sur les chauves-souris et sur les autres animaux cavernicoles. Les chauves-souris sont utilisées comme espèces parapluies dans l'analyse, pour le reste c'est l'ensemble de la faune cavernicole qui est utilisée pour la caractérisation de la grotte. Une liste des espèces cavernicoles a été établie pour le Luxembourg, classant les espèces en 3 groupes : Subtroglophiles (= troglonexènes), Eutroglophiles (= troglaphiles) et Eutroglobionts (= troglobies).

Lors de chaque visite, les espèces sont recherchées à vue et collectées à la main, à l'aide de ciseaux, brosses, pinceaux, dans 3 zones distinctes de la grotte (entrée, moyenne et profonde). Des pièges Barber ("pitfall traps") sont posés pour une période entre 2 et 4 semaines avec un nombre de pièges variable en fonction de la taille et la complexité de la grotte. Les pièges Barber ne sont pas remplis avec de l'éthanol mais avec du propylène glycol pur. Quand il y a de l'eau dans le site, un piège aquatique ou des filets sont utilisés pour collecter la faune aquatique. Les appâts ne sont pas utilisés à cause d'une létalité trop importante et sans intérêt pour obtenir des données de présence/absence. D'après l'équipe en charge de ce monitoring au Grand-Duché de Luxembourg, les appâts ne génèrent pas de meilleurs résultats (pas d'espèce supplémentaire) que les recherches sans appâts, mais entraînent la capture d'un plus grand nombre d'individus. Par ailleurs, l'attraction est variable en fonction des espèces, ce qui biaise les résultats. Enfin, il faut souligner que l'introduction d'appâts (nourriture) dans ces habitats, principalement caractérisés

par l'oligotrophie (rareté des ressources), est susceptible de les perturber très fortement.

L'identification des spécimens collectés en grotte, après tri (par le MNHNL) en grands groupes taxonomiques, est faite :

- par des spécialistes du MNHNL : ils identifient eux-mêmes certains groupes taxonomiques, sur base de critères morphologiques
- s'il n'y a pas de spécialiste au Muséum et que le budget est disponible, les spécimens sont envoyés à des spécialistes extérieurs pour une identification morphologique. Plusieurs problèmes sont néanmoins soulevés :
 - un manque de temps pour certains experts, ce qui entraîne parfois des délais de réponse très longs
 - un manque de disponibilité pour certains experts
 - un manque de moyens financiers pour les payer
 - l'absence d'experts pour certains groupes.
- quand les deux premières solutions ne sont pas possibles ou en cas de taxons particulièrement difficiles à identifier morphologiquement (par exemple les larves de diptères), l'identification est faite par analyse ADN de spécimens récoltés. L'analyse ADN est en général réalisée en interne par les labos du MNHNL (Weigand, 2021). La librairie de barcode ADN (Genbank) qu'ils utilisent comme référentiel pour l'identification est disponible en ligne (www.boldsystems.org). C'est une base de données mondiale à laquelle collaborent les différents biologistes et administrations impliqués dans le suivi de la faune. Elle s'est bien enrichie ces dernières années, y compris pour les animaux cavernicoles, en particulier les groupes emblématiques comme les Niphargus et les coléoptères. 85% des espèces troglobies du Luxembourg figurent dans la base de données avec plusieurs répliques, 5% n'ont qu'un barcode et les 10% restants ne sont pas encore intégrés dans la base de données génétique.

Un avantage de l'analyse ADN est qu'elle permet de mettre en avant des liens phylogénétiques et de mettre en évidence une biodiversité cryptique qui échappe parfois aux déterminations phénétiques.

- soulignons aussi que l'analyse par ADN environnemental n'est pas utilisée dans ce contexte, même si d'autres projets menés par le MNHNL utilisent ces techniques dans le cadre d'autres études.

Les informations consignées pour chaque site sont :

- les chauves-souris, toutefois sans distinguer les individus hibernants des colonies de reproduction
- les autres espèces, notamment les Amphipodes, Gastéropodes et quelques familles de Diptères (Sciaridae, Phoridae)

2. les structures de l'habitat, avec un monitoring et une évaluation de la présence ou l'absence de différents éléments typiques dans la grotte. Les informations sont récoltées pour chaque site sur base d'une série de cases à cocher, indiquant la présence de chaque micro-habitat prédéfini (avec l'idée sous-jacente que la diversité de structure (= geodiversity) est directement proportionnelle à la biodiversité).

3. l'impact humain avec l'évaluation des pressions anthropogènes sur un écosystème « grotte » donné. Ici aussi, les informations sont récoltées pour chaque site sur base d'une série de cases à cocher, indiquant la présence d'éléments et de pressions prédéfinies sur base d'un avis d'expert, à partir d'une échelle visuelle, et de ce qu'on connaît de la cavité. Aucune mesure de ces paramètres n'est menée (pas d'analyse chimique par exemple). Les impacts humains relevés se limitent à l'intérieur de la cavité et à des problèmes de fréquentation. La personne qui évalue la grotte peut aussi émettre des recommandations.

Les paramètres abiotiques ne sont pas utilisés dans l'évaluation au Luxembourg car les profils de température et de circulation d'air sont trop dépendants de la météo extérieure et parce

que les sondes coûtent trop cher (en plus d'un risque de vol). Le MNHNL estime que le lien entre ces paramètres et l'évaluation de l'état de conservation n'est pas suffisamment clair.

L'évaluation finale de l'état de conservation est réalisée sur base d'un système "comptable" assez compliqué où les différents critères et éléments rentrés dans leur formulaire (geodiversity and treats + la biodiversité mesurée) donnent des points positifs ou négatifs au site. La richesse spécifique est pondérée selon le nombre de troglobies / troglaphiles et troglaxènes.

3.4 Allemagne

En Allemagne, l'évaluation de l'habitat 8310 n'est opérationnelle que depuis 4 ans. Le rapportage est confié aux différents « Länder » (= provinces) qui travaillent de manière indépendante. Cependant, 15 des 16 Länder (c.-à-d. tous sauf la Bavière) ont adopté le même formulaire d'encodage pour les relevés dans les grottes afin de fournir des données +/- comparables. Malgré cela, des disparités sont relevées entre les régions (Ssymank, 2021).

Pour un total d'environ 11.000 grottes en Allemagne (dont 50 à 70% sont incluses dans les sites Natura 2000), le monitoring dans le cadre de l'évaluation de l'état de conservation porte sur 63 grottes dans la région continentale, quasi aucune grotte dans la région atlantique et pour la région alpine, l'évaluation est réalisée sur avis d'expert uniquement (Ssymank, 2021).

En Allemagne (comme en Belgique), les grottes n'abritent aucune espèce listée dans les annexes des directives Natura 2000 (habitats et oiseaux), hormis les chauves-souris. 780 espèces sont considérées comme "typiques" des milieux souterrains : 190 eutroglobions (= troglobies), 460 troglaphiles et 130 subtroglobions (= troglaxène). L'évaluation de l'état de conservation des espèces souterraines reste complexe en Allemagne, les espèces sont finalement peu prises en compte. Les Allemands considèrent que toutes les grottes non publiques, qu'elles soient ou non dans le réseau Natura 2000 abritent une faune troglobie/phile classique et relèvent à ce titre de l'évaluation de l'habitat pour l'article 17.

Le schéma d'évaluation des grottes est accessible publiquement, mais pas les données détaillées. Par exemple, Köble (2021) décrit la méthodologie appliquée dans la région du Baden-Württemberg.

Dans cette région, le travail de terrain se base sur 4 échantillonnages en 6 ans pour chaque grotte afin que ça soit représentatif de toutes les saisons. Un suivi régulier est mis en place pour 21 grottes dans le Baden-Württemberg. Les critères utilisés pour l'évaluation de la qualité de l'habitat s'appuient sur un monitoring visuel des espèces protégées (telles que les chauves-souris) et une récolte d'échantillons si la détermination in situ n'est pas possible. Les données biologiques sont collectées via une application sur smartphone (CaveLife App). La liste des espèces et leur nombre, pour chacun des groupes troglobie / troglophile / troglaxène / chauves-souris mène à une catégorisation A, B, C (qui correspond vraisemblablement à FV, U1, U2). L'évaluation de la qualité de l'habitat sur base sur une liste de micro-habitats pour lesquels l'évaluateur estime s'il est présent (un peu, beaucoup ou pas du tout). Les menaces sont évaluées de la même manière, càd sur base d'une liste prédéfinie. L'ensemble de ces critères mène à une évaluation de l'état de conservation du site.

3.5 France

En France, tout le processus d'évaluation de l'état de conservation de l'habitat 8310 dans le cadre de l'article 17 de la Directive Habitats est basé sur « l'avis/dire d'expert ». Aucun protocole d'évaluation centralisé n'existe à l'heure actuelle. Lankester (2021) propose une analyse complète de la situation et des enjeux.

Une personne (à savoir Didier Cailhol) centralise les évaluations des différents experts et interagit avec l'administration de la nature dans ce contexte du rapportage "article 17". Les avis d'experts sont alimentés par des informations sur le "range" fournies par les spéléologues, des études ponctuelles de certains sites, ou dans certaines régions et au cas par cas, des résultats d'études biospéologiques ou d'autres études ciblées sur le monde souterrain.

Les disparités régionales sont très importantes, avec des départements bien structurés, où l'étude des grottes et de la biospéologie est ancrée (comme les Pyrénées ou l'Ariège par exemple) et d'autres pour lesquels on ne dispose de quasi aucune donnée. Les régions biogéographiques méditerranéenne (MED) et alpine (ALP) sont très bien étudiées en comparaison avec les régions atlantiques (ATL) et continentale (CON), qui le sont

nettement moins. Par ailleurs, la disponibilité des données est très variable entre régions, de même que l'identité des experts qui contribuent à l'évaluation article 17. Tout ceci explique les grandes différences qui existent dans les évaluations de l'état de conservation de l'habitat 8310 entre régions biogéographiques françaises.

À part quelques initiatives locales (inventaires biospéologiques, grottes bien suivies, etc), il manque globalement d'un travail sur l'état de référence à l'échelle nationale, ce travail est en cours d'élaboration. Malgré la reconnaissance, par les différents acteurs du milieu souterrain, de l'importance de suivre une méthodologie cohérente dans le temps et dans l'espace, la coordination d'un inventaire pour la France entière est complexe (et peu développée). En effet, cela nécessiterait un appui de l'administration nationale pour laquelle ça ne semble pas être une priorité. Pour l'instant, il existe un échantillonnage très ponctuel et diffus mais il n'y a pas vraiment d'interlocuteur au niveau du ministère de l'environnement et de l'OFB. Il n'y a donc aucun schéma homogène d'évaluation de l'état de conservation, de récolte de données, ni même de description des sites en France. Il faut toutefois noter que l'idée de développer un système (appelé "evalcav") sur base de sciences participatives est en cours d'incubation.

Paramètres biotiques :

Là où il est mis en place (càd dans 3 ou 4 cavités tests), le suivi de la faune s'appuie sur des comptages réalisés par observation directe ainsi qu'au moyen de piège photo (1 photo / jour). En aucun cas le piégeage ni le recours aux appâts n'est utilisé, car ces techniques sont jugées trop perturbatrices pour le milieu. Seules les densités de population de différentes espèces « chapeau » sont évaluées : coléoptères, crustacés Nipharginae mais sans distinction de l'espèce.

L'étude des Nipharginae est motivée par l'existence d'une bonne base de données à la fois taxonomique et ADN établie par Florian Malard (Université de Lyon).

Le problème récurrent du manque de spécialistes pour l'identification morphologique de certains groupes taxonomiques est également très important en France. Le fait de travailler avec des échantillons d'ADN permet de

contourner ce manque. Dans certains cas, la présence (actuelle ou ancienne) de certaines espèces est identifiée par analyse ADN dans le cadre de recherches en archéologie.

Pour ce qui concerne les chauves-souris, certains chercheurs français estiment qu'elles constituent un facteur de dégradation de l'habitat (apport massif de guano, présence de cadavres, augmentation de la température, biocorrosion). Les chiroptères, en tant qu'espèces listées dans les annexes II et IV de la Directive Habitats, font l'objet d'une évaluation à part entière de leur état de conservation et bénéficient de beaucoup de suivi et d'attention. Étant donné que ce statut de protection n'est pas effectif pour les espèces stygobies/troglobies, les experts qui alimentent l'évaluation de l'état de conservation de l'habitat 8310 en France ont décidé de retirer les chiroptères de la liste des espèces indicatrices prises en compte.

Paramètres abiotiques :

Il existe en France une trentaine de « grottes laboratoires » (souvent caractérisées par un intérêt archéologique) où un monitoring continu est réalisé sur des paramètres tels que la température, le taux de CO₂, l'humidité... Ces mesures permettent de dessiner des tendances à long terme ; on cherche notamment à évaluer si ces changements impactent d'autres éléments descriptifs de la cavité et induisent des modifications au niveau de l'habitat. Néanmoins, malgré une acquisition d'expérience grandissante, le traitement de ces données n'est pas encore tout à fait abouti, il semble que l'interprétation de celles-ci soit très variables d'un site à l'autre.

Munir de nouveaux sites en instruments de mesure serait utile pour augmenter la connaissance (variations) des milieux. La question de savoir quels paramètres il faut suivre en priorité reste ouverte.

Évaluation de la surface et du range :

Les Français rencontrés estiment que la mesure de la surface sur base de l'occupation d'une grille ne fonctionne pas. La seule donnée communiquée par D. Cailhol est une longueur pénétrable cumulée des galeries à l'échelle d'une zone biogéographique (donc une longueur et non une surface). Le range est estimé sur base d'avis d'expert sans standardisation de la méthode d'estimation.

4 Conclusion

En conclusion, malgré une obligation de rapportage à la commission européenne similaire pour tous les états membres, dans toutes les régions biogéographiques, la réalité de l'évaluation est extrêmement variable d'un pays et d'une région à l'autre. Les critères et paramètres utilisés, la taille de l'échantillonnage (nombre de grottes évaluées), le protocole de suivi réalisé, la méthodologie d'identification de la faune et même la définition même de l'habitat sont loin d'être homogènes. Toutefois, les systèmes d'évaluation mis en place chez nos voisins sont, selon les cas, inspirants, reproductibles et applicables en Wallonie.



DESCRIPTION GÉNÉRALE DU MILIEU SOUTERRAIN

1 Définition du concept de “grotte non accessible au public” et son statut “d’habitat prioritaire 8310”

Les grottes sont des vides affectant des formations rocheuses naturelles. Ces espaces souterrains fermés en surface sont accessibles à l’homme par un ou plusieurs accès naturellement ouverts, désobstrués volontairement ou accidentellement. Selon les pays et les définitions, un seuil minimal (par exemple de 5 m de développement) est donné en dessous duquel on ne considère pas cette amorce de couloir comme étant une grotte. Les grottes peuvent avoir des origines diverses, elles sont principalement karstiques (liée à la dissolution des roches carbonatées) ou dans certains cas tectoniques et peuvent être partiellement ou totalement remplies de sédiments ou d’eau.

Dans les régions volcaniques on rencontre également des cavités dans des tubes de laves, et en zone côtière, certaines grottes sont liées à l’action de la mer venant frapper le rivage et les falaises. Cette définition très anthropocentrée ne comprend pas toute la diversité d’habitats souterrains qui, même s’ils ne sont pas accessibles à l’homme, font partie d’un biotope cavernicole. Ce réseau de fissures (trop étroit pour l’homme) représente un refuge ou un habitat permanent ou temporaire pour de nombreuses espèces animales formant des communautés caractéristiques.

Dans la Directive Habitat (92/43/CE), sur laquelle se base le réseau Natura 2000 (Maciejewski, 2016), ainsi que la majorité des politiques de conservation à l’échelle européenne, le milieu souterrain est insuffisamment considéré (Lamotte, 2007).

Dans l’Annexe I de la Directive Habitat désignant en Europe plus de 200 habitats (écosystèmes les plus précieux à conserver) le milieu souterrain est mentionné de manière marginale malgré la présence d’une faune remarquable hautement endémique (Botosaneanu, 1986). Le milieu souterrain fait partie des « Habitats rocheux et grottes » / « Autres habitats rocheux » dont le contenu est structuré comme suit :

- 8310 Grottes non exploitées par le tourisme
- 8320 Champs de laves et excavations naturelles (Tubes de lave)
- 8330 Cavités marines submergées ou semi-submergées
- 8340 Glaciers permanents

La Région wallonne n’est concernée que par l’Habitat 8310 « Grottes non exploitées par le tourisme » (Hendrickx et al., 2021).

D’autres pays (en particulier en Europe de l’Est) où la biodiversité cavernicole est particulièrement riche et qui ont rejoint l’Union Européenne plus tard, ont étendu et nettement enrichi la liste des espèces et des habitats liés au milieu souterrain (Bilela, 2021 ; Drazina, 2021).

2 Pourquoi le concept de “grotte non accessible au public” est-il trop restrictif pour bien protéger les écosystèmes souterrains ?

« *Caves not open to the public, including their water bodies and streams, hosting specialised or high endemic species, or that are of paramount importance for the conservation of Annex II species (e.g. bats, amphibians).* » (European Commission, 2013)

Selon la typologie WalEUNIS décrite sur le portail biodiversité de la Région wallonne, on distingue les 3 niveaux hiérarchiques suivants :

- **H1** : Grottes naturelles développées au sein des massifs calcaires exploitées ou non par le tourisme, pouvant contenir des plans d'eau et espaces souterrains issus des activités extractives (schistes, phyllades, psammites, craie à silex et tuffeaux, charbon, ...) en activités ou désaffectés.
- **H1.2** : Grottes naturelles développées au sein des massifs calcaires exploitées ou non par le tourisme, pouvant contenir des plans d'eau.
- **H1.2a**: Grottes naturelles développées au sein des massifs calcaires non exploitées par le tourisme, pouvant contenir des plans d'eau. De tels milieux abritent des communautés végétales très limitées (algues, mousses, champignons). C'est essentiellement une faune cavernicole très spécialisée qui y trouve refuge : des invertébrés représentés principalement par des coléoptères, des crustacés, des mollusques. En ce qui concerne les vertébrés, ces milieux constituent des sites d'hivernage très importants pour la plupart des chauves-souris, dont certaines très menacées et reprises à l'Annexe II de la directive 92/43/CEE.

En France, la typologie adoptée de ces réseaux souterrains a été affinée par rapport au manuel EUR 15 et à Corine Biotopes. Rentrent dans la définition du type d'habitat 8310 (Lankester, 2021) :

- les grottes accessibles à l'homme et peuplées de chauves-souris
- le réseau de passages et de fissures inaccessibles à l'homme
- l'ensemble des micro-cavités inter-communicantes (dans des éboulis stabilisés...) isolées de la surface par un sol, qui constitue le milieu souterrain superficiel (MSS)
- les aquifères souterrains renfermant des masses d'eau statiques ou courantes

Réduire l'écosystème souterrain aux seules cavités non accessibles au public est très réducteur et ne permet pas d'englober un grand nombre de sites et d'environnements dans lesquels cette faune particulière a pris place.

Cette vision anthropocentrée du milieu souterrain a été critiquée par de nombreux auteurs et chercheurs en biospéologie. Les recherches et investigations concernant la faune cavernicole dans des habitats annexes se sont multipliées ces dernières décennies et ont démontré toute la richesse et l'intérêt des communautés cavernicoles qui y ont élu domicile. Jusqu'au milieu du XX^{ème} siècle, tant le public que les spéléologues ou même les spécialistes considéraient que l'habitat exclusif des animaux souterrains se limitait à la grotte, partie du milieu souterrain accessible à l'homme (Juberthie, 1995).

Le concept discutable de « **grottes non exploitées par le tourisme** » est la seule mention explicite d'habitat souterrain dans l'Annexe 1 de la Directive applicable en Wallonie. Les cavités touristiques ayant probablement été jugées comme trop "transformées" par l'homme pour représenter un habitat naturel et une biodiversité intéressante. Or bon nombre de cavités touristiques ont une grande valeur. Ainsi la grotte considérée comme ayant la biodiversité la plus riche au monde est le système Postojna-Planitzia en Slovénie. Ce système karstique contient 84 espèces de troglodies, en grande partie endémiques (Culver & Sket, 2000). La cavité est aménagée et exploitée touristiquement depuis 1880, drainant plusieurs centaines de milliers de visiteurs tous les ans !

De même, en Wallonie, les cavités qui ont fait l'objet du plus grand nombre de recherches biospéologiques sont de très loin la grotte de Han et la grotte de Ramioul (Hubart & Dethier, 1999). Et ces deux cavités ne seraient pas éligibles à la définition des sites 8310 vu qu'elles sont très partiellement visitées¹ par des touristes, elles recèlent pourtant à elles seules une proportion importante de la biodiversité souterraine de la région !

Les caractéristiques très particulières du milieu souterrain – conditions climatiques (température stable et haut degré d'humidité), absence de lumière et de production primaire, chaîne

¹Seul un dixième du réseau souterrain connu de Han et moins de 20% de la Grotte de Ramioul sont intégrés dans le parcours des touristes, le reste du développement de ces cavités n'accueille que des chercheurs.

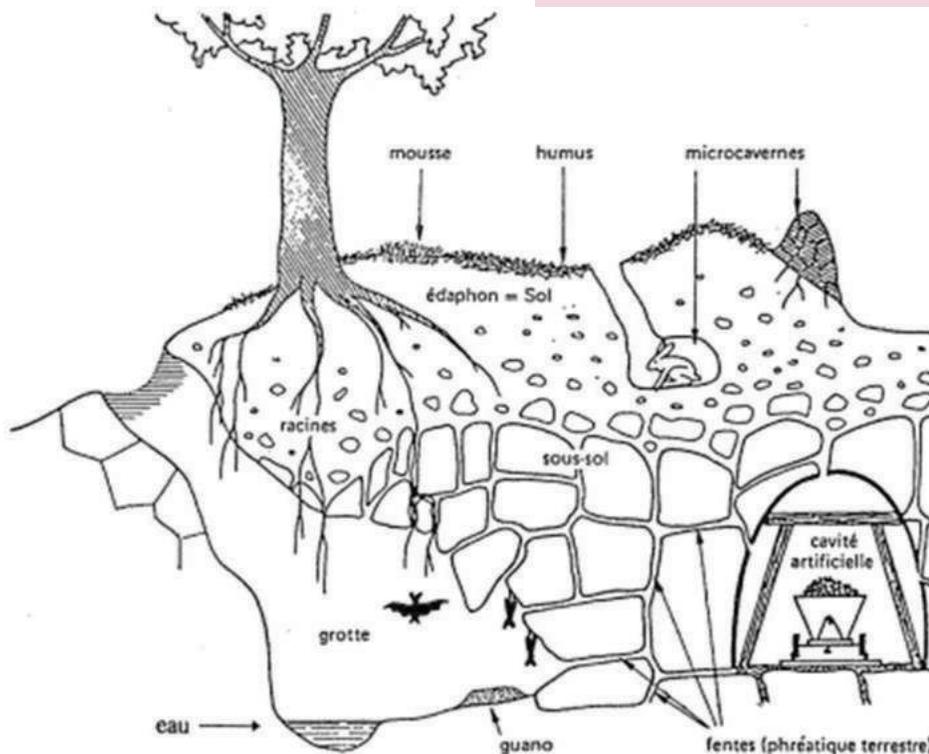
trophique tronquée et rareté des ressources alimentaires, faune endémique inféodée à ces conditions (Gibert & Deharveng, 2002) – auraient justifié qu’une classe entière d’habitats soit consacrée à ce milieu pour y distinguer un vaste nombre d’écotopes et mettre en valeur la richesse du milieu souterrain. Des organismes inféodés au milieu souterrain ont ainsi pu être retrouvés dans une grande diversité d’habitats :

- Cavités artificielles, mines, carrières souterraines
- Puits, captages, drains
- Glacières, tunnels, souterrains, ouvrage d’art
- Terriers, micro-cavernes
- Milieu souterrain superficiel (MSS)
- Habitat interstitiel des cours d’eau (habitat hyporhéique)
- Grottes et réseau de fissures

Même si une partie de ces sites ne répond pas à la définition de l’habitat 8310, ils peuvent présenter des conditions de vie identiques à celles des grottes naturelles et sont considérés, étudiés et documentés comme quasiment équivalentes dans la biospéologie moderne. Une meilleure protection de la biodiversité souterraine se doit de considérer d’une manière ou d’une autre ces milieux complémentaires aux grottes (De Broyer, 1995).

Nous décrivons en annexe 1 du présent chapitre ces différents habitats souterrains en mettant en évidence la particularité de chacun de ces habitats et leur possible relation / incidence sur les grottes. Nous plaçons pour qu’ils soient à l’avenir intégré dans l’étude du milieu souterrain (bien qu’en marge de l’évaluation de l’habitat 8310) et les stratégies de conservation en faveur des organismes cavernicoles et de leur biodiversité.

Dans le cadre de l’évaluation de l’état de conservation de l’habitat 8310 en Wallonie, nous proposons de considérer comme faisant partie de l’habitat 8310 toutes les cavités d’origine naturelle dans l’écorce terrestre, largement entourées de roche solide et remplies d’air, de sédiments ou d’eau, qui doivent avoir une taille minimale de 5 mètres de développement et permettre un accès humain. Les parties non exploitées des grottes touristiques peuvent également être considérées si de grandes portions du réseau ne sont pas accessibles aux visiteurs. La partie de la grotte aménagée pour les visiteurs doit être évaluée comme une atteinte, le cas échéant. Par conséquent, les cavités créées par les animaux (cavités d’arbres, terriers) et toutes les cavités créées par l’homme, comme les galeries de mines, les carrières ou les puits, ne sont pas considérées comme faisant partie de l’habitat 8310 au sens des géosciences et selon la définition de la directive Habitats Natura 2000.



Le domaine souterrain terrestre (dessin : Ginet-Decou)

3 Spécificités de l'habitat "grottes" en Wallonie

En Wallonie, les grottes sont cantonnées aux affleurements calcaires et résultent du processus de dissolution de la roche au contact d'une eau légèrement acide. Ce processus est connu sous le terme de "karstification".

Ce processus ne se limite pas à la formation de vides pénétrables, mais impacte également fortement l'hydrographie et la perméabilité des terrains, ayant une incidence directe sur la vulnérabilité de ces massifs vis-à-vis de pollutions pouvant provenir de la surface (voir chapitre 5 - menaces).

3.1 Karst & karstification

Le karst est un paysage caractérisé par des formations géologiques spécifiques résultant de processus de dissolution de roches solubles, tels

que le calcaire, la dolomie ou d'autres types de roches carbonatées.

Les processus géochimiques de formation du karst qui s'opèrent dans le calcaire et que l'on rencontre dans les grottes vont avoir une incidence sur la morphologie des cavités, mais aussi sur la manière dont se structure et s'articule l'habitat souterrain et ses échanges avec l'extérieur (voir schéma du massif calcaire). Pour les décrire, il faut avant tout pouvoir en nommer les principales composantes :

1. Galeries : passages souterrains généralement étroits et allongés qui se forment par l'érosion et la dissolution des roches dans les grottes. Elles peuvent être de différentes tailles et formes, et elles constituent le réseau principal de connexion entre les différentes parties d'une grotte.

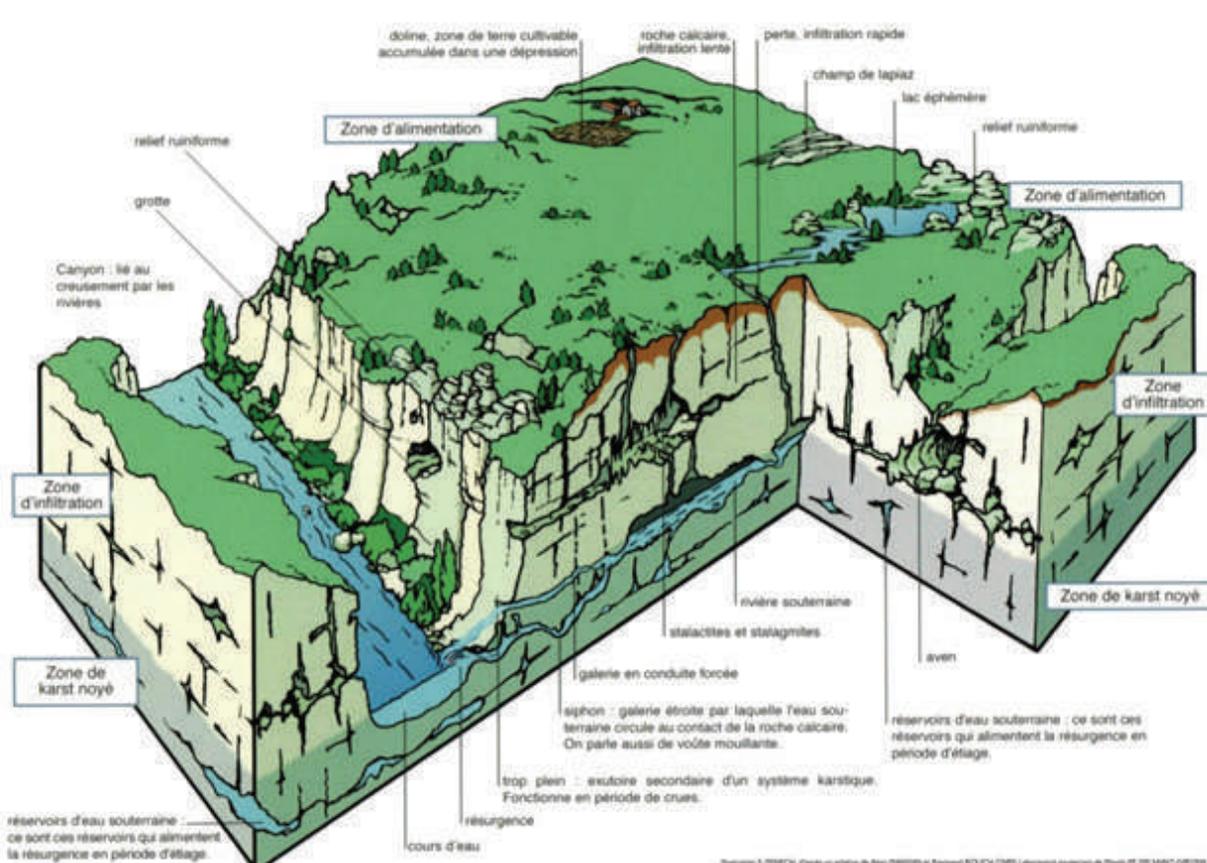


Schéma d'un massif calcaire montrant comment l'eau affecte la roche en place, aboutissant à la formation d'un réseau hiérarchisé de sites de surface et souterrains interconnectés pour certains. Le karst wallon est assez différent de ce schéma théorique car il est généralement surmonté d'un sol épais profond, faisant l'objet d'une activité anthropique intense (ea. agricole, urbaine,...)

2. Puits : conduits verticaux qui descendent vers des profondeurs plus grandes dans une grotte. Ils sont souvent formés par des écoulements d'eau qui ont dissous la roche le long de fissures verticales. Les puits peuvent varier en taille, allant de petits trous à de vastes puits verticaux profonds.
3. Salles ou chambres : espaces plus ouverts et plus vastes dans une grotte. Elles sont généralement formées par l'érosion de roches plus solubles ou par l'effondrement de parties du plafond de la grotte. Les salles peuvent être de tailles différentes, allant de petites cavités à de vastes espaces souterrains.
4. Réseau actif : désigne la partie d'une grotte où l'eau circule régulièrement. Il comprend les galeries et les passages par lesquels l'eau s'écoule pendant les périodes de précipitations ou en raison de la présence de sources. Le réseau actif peut varier en fonction des fluctuations saisonnières et des conditions hydrologiques.
5. Spéléothèmes : toutes les formations minérales qui se forment dans les grottes à partir des dépôts de minéraux dissous transportés par l'eau. Les spéléothèmes (synonyme : concrétions) les plus couramment rencontrés sont les stalactites, qui pendent du plafond, les stalagmites, qui montent depuis le sol, et les colonnes, qui se forment lorsque des stalactites et des stalagmites se rejoignent. Il existe également d'autres formations telles que les draperies, les perles de grotte et les cascades pétrifiées.

3.2 Caractéristiques des grottes en tant qu'habitat

Les cavités constituent un environnement particulier caractérisé par un micro-climat très spécifique où les flux de matière organique, la ventilation, les variations de température et l'absence de lumière conditionnent une vie animale très spécifique, parfois endémique. Un massif karstique doit être perçu comme un vaste système intégrant l'ensemble des circulations drainées par l'aquifère. Ce réseau de diaclases et de strates permet également de mettre en relation la faune des cavités et celle des fissures. Les organismes peuplant les cavités et les eaux souterraines ne sont

pas distribués au hasard. Ils s'organisent en peuplements structurés répondant à un certain nombre de contraintes écologiques.

3.2.1 Spécificités micro-climatiques

Au fur et à mesure que l'on s'enfonce dans la grotte (et qu'on s'éloigne des accès depuis l'extérieur), la quantité de **lumière** diminue jusqu'à l'obscurité totale. **La température et l'humidité** de l'air diffèrent entre la zone d'entrée et la partie profonde. Près de la surface, ces variables physiques peuvent fluctuer fortement au cours de l'année (et même parfois sur une journée) alors qu'elles sont beaucoup plus stables en profondeur.

En profondeur, la température enregistrée dans la cavité est indépendante des fluctuations saisonnières extérieures et reste proche de la température moyenne de la masse rocheuse environnante (se rapprochant le plus souvent d'une dizaine de degrés sous nos latitudes). L'humidité de l'air dans les passages situés près des accès en surface varie selon en fonction des saisons. Dans les profondeurs des grottes, et surtout dans les endroits où il n'y a pas de ventilation, l'humidité est généralement très élevée.

D'autres éléments peuvent avoir un impact sur le microclimat des grottes : la pression atmosphérique, la vitesse et la direction des flux d'air, la composition gazeuse de l'air et le rayonnement thermique. Le climat de chaque grotte peut être encore influencé par un certain nombre d'autres facteurs géographiques et morphologiques, tels que sa localisation dans le sous-sol, l'exposition et la taille des ouvertures, la taille et le développement horizontal et vertical de la grotte, ainsi que l'approvisionnement en eau et le type de substrat (Linghi & Manenti, 2017).

3.2.2 Cavités statiques ou dynamiques

En fonction de la morphologie, on peut distinguer deux types de grottes :

1. **les grottes dynamiques** : comportant plusieurs ouvertures, les grottes de ce type voient l'air circuler constamment dans les passages. Les facteurs climatiques externes ont un impact significatif sur le microclimat de la grotte, le rendant plus variable et plus dépendant des variations climatiques saisonnières qui se produisent à la surface ;

2. **les grottes statiques** : comportant une seule ouverture. Dans ce type de grotte, le micro-climat est très stable et largement indépendant des facteurs externes. Les grottes statiques peuvent être "chaudes" ou "froides", sèches ou humides, avec bien souvent des gradients de ces caractéristiques qui changent au fil des saisons.

Sur base de l'ensemble des facteurs qui influencent le micro-climat, on peut distinguer trois zones dans les grottes (voir illustration) :

1. la **zone d'entrée** (proche du trou d'accès), où les conditions sont proches de la surface, la température est variable, les galeries sont éclairées par la lumière directe ou réfléchie du soleil. Les changements de microclimat correspondent aux changements de saison (Tercafs, 1989). La zone d'entrée d'une cavité constitue un écotone (une zone de transition), où les variations de température, de lumière et d'humidité sont encore très sensibles. On y trouve encore parfois des végétaux verts, en particulier des mousses. C'est généralement également la zone où les apports nutritifs (provenant de l'extérieur) sont les plus importants ce qui permet à la faune des couches superficielles du sol d'échanger avec le milieu souterrain. On y rencontre aussi une faune composée d'espèces accidentelles. Dans cette zone d'entrée, les parois (latérales et plafond) accueillent une faune pariétale très riche. C'est ainsi que l'on rencontre régulièrement à certaines époques de l'année des dizaines d'espèces dont des lépidoptères, diptères,

trichoptères, coléoptères, hyménoptères,... qui viennent y passer une partie de leur cycle (hivernants ou estivants) ;

2. La **zone de transition (zone intermédiaire)**, caractérisée par des conditions microclimatiques plus stables. L'impact des changements climatiques sur la surface est moins prononcé. La zone est caractérisée par l'obscurité ;

3. la **zone profonde**, caractérisée par l'absence de lumière et une grande stabilité des conditions climatiques. La température de l'air est proche de la température annuelle moyenne de la région, la saturation de l'air en eau est proche de 100 %.

3.2.3 La diversité en micro-habitats influence la biodiversité

Les cavités accueillant la biodiversité la plus importante sont généralement des sites de grande envergure, complexes, avec une hydrologie variée ainsi qu'un grand nombre d'entrées. Ces cavités offrent une diversité de conditions écologiques et climatiques, à même de créer au sein de ce réseau une variété de "micro-habitats". Chaque micro-habitat peut accueillir des communautés d'organismes spécifiques, contribuant ainsi à la biodiversité globale de la cavité. La présence simultanée dans une grotte de galeries sèches ou humides, rocheuses, glaiseuses ou de parois concrétionnées, d'eau courante et/ou stagnante (« lac », siphon, gours, flaques...) lui confère une plus grande valeur biologique potentielle, du fait de la multiplication des micro-habitats et des niches présentes (Dethier & Rochez, 2022). De même, la biodiversité cavernicole d'une région ou d'un massif donné peut être corrélée avec la densité et le nombre de cavités qui s'y trouvent et qui conditionnent pour partie la disponibilité en habitats souterrains (Christman & Culver, 2001).

Il existe quelques plans et cartes topographiques de sites souterrains, qui incorporent des informations géologiques, morphologiques et hydrologiques : Grotte de Remouchamps (Ek, 1970) et Grotte de Hotton (Dubois, 2003) par exemple. Mais cela reste plutôt l'exception et, en Wallonie, ce type de relevé n'a pas spécifiquement été fait sur base d'une typologie d'habitat.

Pour englober de la manière la plus complète la biodiversité présente dans une cavité, il faudra donc multiplier les échantillonnages en

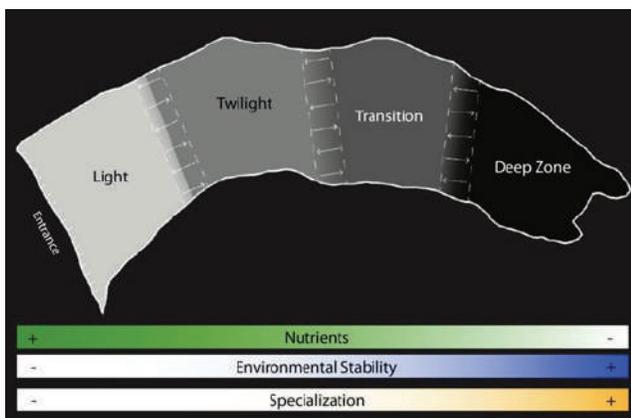


Illustration de la zonation des conditions microclimatiques au sein d'une cavité depuis l'entrée jusqu'au fond de la cavité.

ciblant le plus de micro-habitats différents possible. Répertorier et “pointer” ces micro-habitats dans les grottes à étudier, constitue une première étape. Sur base de ce relevé sommaire, il sera possible de sélectionner les stations d'échantillonnage selon la typologie des micro-habitats.

Une version de la diversité des micro-habitats, simplifiée et adaptée au contexte wallon (De Broyer & Michel, 1998) est proposée au point 3.3 (tableau 1). Ce tableau permet de définir via un code combinant lettres et chiffres de manière intuitive et simple les caractéristiques de chaque station d'échantillonnage et ainsi de voir à quel micro-habitat elle appartient. Nous avons voulu concevoir une clé qui puisse être appliquée directement et visuellement sur les topographies lors des relevés biologiques qui y sont réalisés. De ce fait, nous avons rassemblé certaines catégories de micro-habitats qu'il aurait été compliqué de différencier sous terre.

Une attention particulière doit être apportée à la présence d'eau et de matière organique (apportées par les crues par exemple, ou par certains animaux occupant temporairement le milieu souterrain) qui constituent une des bases importantes de la chaîne trophique dans ce milieu (Ravn, 2020).

3.2.4 Typologie des micro-habitats et des guildes biologiques associées

Le milieu souterrain a été traditionnellement subdivisé en habitats aquatiques et terrestres (Juberthie, 1995). La typologie proposée doit permettre de distinguer et de localiser ces habitats, terrestres et aquatiques (et leur déclinaison), dans les 3 zones micro-climatiques des cavités (zone d'entrée, intermédiaire et profonde) hébergent des associations distinctes.

Pour la faune terrestre en grotte, on examinera plus particulièrement les milieux suivants :

1. Zones pariétales (et du plafond)
Les parois d'une cavité constituent un habitat à part entière. La présence de reliefs sur les parois ainsi que des fissures offrent à la faune une variété de conditions micro-climatiques (température, humidité). Les fentes de la roche accueillent des

espèces endogées provenant du sol en surface. Dans les fentes, les produits de décomposition de la roche offrent à certaines espèces des abris et même la possibilité de se construire des logettes.

2. Sols et dépôts de remplissage meubles récents (granulométrie fine)

La granulométrie du dépôt joue un rôle important. Certaines communautés sont par exemple inféodées aux nappes d'argiles (Hubart, 2001), aux limons et/ou aux dépôts sableux. Enfin, selon la nature des dépôts, des bactéries particulières peuvent être associées et celles-ci entrent dans le fonctionnement de la chaîne trophique.

3. Éboulis et zones comportant des blocs de taille importante

Les graviers, les galets et surtout les éboulis offrent quant à eux un espace interstitiel qui peut s'avérer intéressant pour certains organismes.

4. Spéléothèmes et dépôts de calcite.

Les stalagmites, planchers et gours sont alimentés par l'eau de percolation s'infiltrant depuis la surface, amenant avec elle des microorganismes, des acides humiques et autres nutriments. Lorsqu'ils ne sont pas piétinés et dans une atmosphère stable, ce milieu offre des conditions idéales pour certaines espèces cavernicoles, en particulier pour des collemboles, que l'on retrouve à la surface de la fine pellicule d'eau de percolation.

5. Zones avec colonies de chauves-souris (faune parasite, guanophile et nécrophage)

Dans certaines cavités accueillant de très vastes colonies de chiroptères (ce qui n'est en général pas ou plus le cas en Wallonie), les déjections (guano) peuvent constituer la base de toute une chaîne trophique à laquelle une communauté particulière est associée. L'accumulation de guano peut attirer des espèces détritivores, guanophiles et nécrophages (Collembolles, Diptères,...), ainsi que leurs prédateurs (Chilopodes, Carabes, Staphylins, Réduves,...).

Pour la faune aquatique les milieux suivants peuvent être différenciés (Martin et al., 2004) :

6. Eaux courantes (rivière souterraine) provenant directement de l'extérieur. Lorsqu'un chanoir se déverse dans un réseau souterrain, c'est une eau de surface qui s'engouffre dans la grotte. Elle charrie avec elle une série d'éléments en suspension ou dissous et de matière organique (surtout en périodes de crues) qui vont enrichir la cavité. Dans cet écoulement à dominante horizontale, à fort débit (en crue), des espèces stygobies ou accidentelles de grande taille peuvent se développer (poissons, crustacés...).

7. **Vasques et eaux stagnantes.** Qu'elle résulte de la percolation depuis la voûte (alimentant par exemple un gour) ou d'un débordement d'un cours d'eau souterrain, cette eau n'aura pas les mêmes caractéristiques physico-chimiques et peut héberger des associations différentes. Il est utile de déterminer si ces vasques sont temporaires ou pérennes et si elles sont proches de la nappe (fissures remplies d'eau) d'où les organismes aquatiques pourraient venir recoloniser cet environnement. La présence d'alluvions et de boues dans le fond de ces cuvettes remplies d'eau a également son importance.

8. **Percolation active depuis le plafond** (voir point 4 relatif aux spéléothèmes)

9. **Regards et accès à la nappe aquifère (zone saturée)** Certaines cavités voient leur réseau profond descendre jusqu'à la nappe. Sous le niveau piézométrique, les galeries se remplissent d'eau et permettent alors d'échantillonner l'aquifère calcaire.

3.3 Tableau des micro-habitats et report cartographique

Chaque station d'échantillonnage devrait définir les différentes variables suivantes composant les caractéristiques d'un micro-habitat :

- proximité/éloignement par rapport à l'entrée (zonation)
- type de substrat, de support (détaillé)
- présence d'eau (pour les habitats non aquatiques)

Sur base de la typologie des micro-habitats souterrains accessibles via les grottes (voir 3.2.4), il devrait être possible de reporter ces différents milieux sur la topographie de la grotte et ainsi de disposer d'une carte sommaire des micro-habitats présents dans la cavité. Cet exercice devrait idéalement être réalisé en période de basses et de hautes eaux, car les conditions au sein des différentes parties de la grotte peuvent drastiquement changer au cours du temps.

En parallèle de cette cartographie des micro-habitats, on pourra associer à chaque station échantillonnée les caractéristiques physico-chimiques mesurées, ainsi que la biodiversité observée. Ceci permettra d'évaluer l'apport spécifique de chaque micro-habitat dans la biodiversité globale d'une cavité, mais aussi d'estimer l'impact des caractéristiques physiques du milieu sur la présence/absence de certaines espèces ou guildes cavernicoles. Cette représentation topographique des observations biotiques et abiotiques (espèces, habitats et caractéristiques du milieu) offre l'avantage de pouvoir être comparée d'une année à l'autre. Ceci peut faciliter le travail d'échantillonnage et d'évaluation de l'évolution favorable (ou défavorable) de l'état du milieu souterrain et de sa biodiversité associée.

En Allemagne, les biologistes et spéléologues ont développé une application utilisable sur le terrain (CaveLife-App, sur smartphone ou tablette) qui permet de pointer directement sur la topographie les différentes observations concernant le milieu et notamment la présence et l'étendue de certains micro-habitats (Zaenker, 2021)

Partie I: zonation	
Zones	Présence d'eau (hors eau stagnante et courante)
E: entrée	1: Sec
I: Intermédiaire (= Transition)	2: Humide
P: Profonde	3: Détrempé
Partie II: micro-habitats	
Roche	A: Lisse B: Poreuse / avec aspérités C: Fissurée
Eboulis	A: Cailloux < dm ³ B: Blocs > dm ³
Sédiment	A: Argile B: Gravier fin / sable C: Gravier grossier
Spéléothème	A: Stalagmite / Stalactite / Colonne B: Coulée C: Plancher
Eau stagnante	A: Regard sur la nappe phréatique B: Bassin/Flaque (minimum 1 m ² de surface cumulée) C: Gour (retenue d'eau avec calcification)
Eau courante	A: Ruissellement B: Ruisseau / Rivière souterraine

Tableau 1. Typologie utilisée pour les aspects structurels du volet 1 de la méthodologie : “Evaluation des paramètres abiotiques et structures (micro-habitats)”.

4 Méthodologie de calcul pour les surfaces, les longueurs et l'extension géographique (range) de l'habitat 8310

Dans le contexte du rapportage article 17 de la directive Habitats Natura 2000, il est demandé, pour tous les habitats à protéger, de calculer une superficie et une étendue du milieu en question. Cette approche se justifie pour la plupart des habitats naturels qui voient leur superficie menacée par l'urbanisation et/ou par des projets d'aménagements²).

Les critères "Area" (superficie) et "Range" (étendue) sont utilisés dans la méthodologie du rapportage (articles 15 et 17) des directives Habitats et Oiseaux pour évaluer l'état de conservation des habitats naturels et des espèces.

Toutefois, pour les milieux souterrains, cette notion d'évaluation de la surface perd totalement son sens étant donné leur structure dans les 3 dimensions de l'espace, et avec des surfaces anastomosées par les concrétions, failles, éboulis. Nous proposons ci-dessous une interprétation de ces notions avec une méthode de calcul adaptée pour l'habitat 8310.

4.1 La notion de "Area" (superficie de l'habitat)

Pour les habitats naturels, ce critère fait référence à la superficie d'un habitat naturel spécifique. Cette superficie est déterminée en prenant en compte la taille de la zone occupée par l'habitat, qu'il s'agisse d'un habitat terrestre, aquatique ou marin. La superficie est mesurée en hectares ou en kilomètres carrés.

Pour les espèces, le critère "Area" fait référence à la zone géographique ou à l'aire de répartition de l'espèce. Cette zone peut être déterminée en utilisant des données de présence historiques et actuelles de l'espèce, des informations sur les mouvements migratoires, les zones de reproduction et les zones d'alimentation.

Un habitat présentant une superficie stable (voire en augmentation) est donc un élément favorable à la conservation de la biodiversité qu'il héberge. Il est dès lors utile d'en faire le suivi tous les 6 ans dans le cadre du rapportage article 17 et d'en tenir compte de l'évaluation du bon état du milieu et des tendances (favorables ou défavorables) qui le caractérise.

4.1.1 Estimation de superficie d'un habitat Natura 2000

L'estimation du paramètre « surface » pour les milieux ouverts se base sur les informations issues des zones cartographiées de manière détaillée. La méthode de calcul varie néanmoins, puisque la qualité et l'exhaustivité des informations diffèrent sensiblement en fonction de l'habitat. Pour quelques habitats, l'information cartographique disponible correspond pratiquement à une cartographie exhaustive. Il s'agit essentiellement d'habitats rares et à prédictibilité élevée, ou dont toutes les stations sont supposées connues. C'est par exemple le cas des buxaias (5110). Dans ces cas particuliers, la surface a été estimée sur base de l'ensemble des cartographies détaillées issues des sites Natura 2000 et des prospections complémentaires.

Il est cependant beaucoup plus difficile d'estimer les superficies totales pour des habitats présentant en règle générale une dispersion géographique plus importante. Pour des raisons de priorités dans l'allocation des moyens, aucune méthodologie d'inventaire n'a été mise en œuvre au cours de la période de rapportage pour ces milieux. Il s'agit par exemple des habitats rocheux. L'information surfacique disponible pour ces milieux (essentiellement les sites Natura 2000 à cartographie détaillée) peut donc être inférieure à 50 % de la surface réelle. Il s'agit alors d'évaluer la proportion que représentent les surfaces connues par rapport à la surface totale de l'habitat et de leur appliquer un facteur d'extrapolation. Le calcul se corse encore pour les falaises rocheuses, quasi

²La réduction dramatique des zones humides à l'échelle de l'Europe depuis 1950 est un des exemples les plus criants, mettant en péril la biodiversité qui est associée à cet écosystème si particulier.

verticales, dont l'emprise au sol (et donc les calculs par cartographie informatique) donnent des valeurs très faibles alors que la superficie effective en m² de parois est loin d'être négligeable.

4.1.2 Problèmes pour estimer la superficie du milieu souterrain

Contrairement aux habitats de surface, les grottes et les différents habitats souterrains (voir annexe 1) disposent d'une 3ème dimension : la profondeur. Il y a lieu d'en tenir compte pour les cavités étagées dont la surface peut se répartir sur plusieurs niveaux superposés qu'il faudra cumuler. Par ailleurs, lorsqu'il s'agit d'évaluer l'extension du milieu souterrain dans son ensemble, ne prendre en compte que les cavités pénétrables est certainement réducteur et limitant, mais ces autres habitats sont encore mal connus et non cartographiés, leur emprise surfacique ne peut donc pas être estimée par nos soins.

Pour le calcul de la superficie des grottes, nous nous sommes inspirés de la manière dont d'autres pays en Europe ont calculé l'"Area" des grottes sur leur territoire (Croatie, Allemagne, Certains départements français, Italie...). Généralement, les scientifiques se basent sur le travail des spéléologues et plus particulièrement des topographies qui ont été réalisées par ceux-ci. Ce sont des représentations graphiques plus ou moins précises des galeries accessibles à l'homme. Toutes les grottes ne sont cependant pas topographiées et pour certaines, les données sont inconnues ou incomplètes.

Ces documents cartographiques sont très loin d'être tous numérisés et le calcul précis d'une superficie sur cette base reste donc irréalisable et illusoire. Par contre, lors de ses relevés souterrains, le topographe mesure et additionne les différentes visées et produit ainsi un cheminement dans la cavité. On dispose dès lors d'une longueur cumulée de la cavité, qui est communément appelée

le "développement" et qui additionne aussi bien les segments horizontaux que les puits verticaux et la longueur des galeries obliques.

Sur base de quelques cavités bien connues (et pour lesquelles des topographies 3D sont disponibles), il a été possible de comparer ce développement avec les surfaces de parois (comportant également les plafonds et le sol de la grotte).

Nous proposons donc d'utiliser comme proxy (un peu simplifié mais facile à calculer pour tous les sites) de multiplier par 4 la longueur totale (développement) en m de la grotte pour estimer la superficie en (m²) de ses parois et donc de l'habitat³.

Il s'agit bien entendu d'une estimation, qui pourra potentiellement être affinée et améliorée dans le temps selon la qualité des topographies qui sont produites par les spéléologues.

4.1.3 Estimation de la superficie : calcul appliqué aux réseaux de grottes en Wallonie

En Wallonie, l'Atlas du Karst Wallon inventorie de manière assez exhaustive et précise l'ensemble des phénomènes karstiques (près de 9000 sites) parmi lesquels 2015 sites (grottes, abris sous roche et chantoirs pénétrables) présentent un développement souterrain supérieur à 2 m (Atlas du Karst Wallon, octobre 2023, Michel, comm. pers.; Service Public de Wallonie, 2025). Pour chacune de ces cavités, en plus de sa localisation, on dispose des données concernant son développement et sa dénivellation (différence d'altitude entre le point haut et bas de la grotte). Nous proposons de prendre le développement cumulé de l'ensemble de ces sites à l'échelle de la Wallonie et de le multiplier par le coefficient 4 pour disposer de l'estimation de la superficie de l'habitat 8310 :

³C'est ce même coefficient (surface = 4* développement) qui par exemple a été choisi par les Croates pour estimer l'aire de l'habitat 8310 lors de leur reporting article 17.

Province	Développement cumulé (m)	Dénivelé cumulé (m)	Développement moyen par cavité (m)	Superficie estimée (m ²)
Hainaut	2407	336,3	21,9	9628
Liège	81367	5386,8	102,1	325468
Luxembourg	22423	1488	94,2	89692
Namur	127306	6426	120,7	509224
Total	233503	13637,1	106,2	934012

Tableau 2. Estimation de l'“Area” (dernière colonne en m²) de l'habitat grotte basé sur le développement cumulé (exprimé en m) des cavités wallonnes multiplié par un coefficient 4.

Selon ce calcul la superficie totale de l'habitat “Grotte” en Wallonie (sans en extraire les sites touristiques) serait d'**un peu plus de 934000 m², soit plus de 93 ha**. Ceci comprend les parois ainsi que le sol et le plafond des cavités qui constituent l'interface roche/atmosphère qui peut potentiellement être colonisée et servir de support physique (donc d'habitat) pour la faune cavernicole.

4.1.4 Une superficie d'habitat très peu variable

L'intérêt de calculer l'“Area” d'un habitat à protéger réside dans le suivi de l'évolution de cette superficie et des risques potentiels de perdre de la biodiversité par réduction/disparition d'une partie de l'aire de répartition. Les exemples sont hélas trop nombreux pour d'autres habitats visés par les directives européennes régissant Natura 2000, tels que les milieux humides ou les prairies maigres de fauche.

Dans le cas du milieu souterrain, l'habitat n'est pas directement en compétition avec d'autres activités en surface... Seules les carrières et certains travaux de génie civil peuvent entamer un massif et ainsi détruire

une cavité... Cependant, ces cas sont devenus rares⁴ et on peut estimer que ces destructions sont au moins compensées par l'accès à des cavités jusque-là inconnues et inaccessibles, rendant possible l'avancée du front de taille des carrières.

Entre deux exercices de reporting article 17, la superficie de grottes connues à l'échelle de la Wallonie évoluera donc seulement au gré des nouvelles découvertes spéléos (grâce au travail continu d'exploration et parfois de désobstruction) et des quelques destructions tout à fait marginales. On peut estimer que cette “Area” est stable. Si les activités en surface n'ont pas d'incidence sur la présence du milieu souterrain et son étendue, elles peuvent par contre profondément modifier et en altérer le fonctionnement et l'écosystème souterrain (voir chapitre 5 - menaces). C'est donc une approche qualitative plutôt que quantitative qu'il faut avoir lorsqu'on veut estimer l'incidence et l'impact de l'occupation du sol et de l'usage des terres sur l'habitat souterrain.

⁴Une conscientisation croissante des carrières eux-mêmes et l'existence d'un inventaire des sites karstiques a permis au cours du temps de réduire fortement ces “accidents”.

4.2. La notion de "Range" - application au milieu souterrain en Wallonie

Pour les habitats naturels, le critère "Range" fait référence à la répartition géographique de l'habitat naturel dans une région donnée. Il peut être déterminé en utilisant des cartes et des données sur la présence de l'habitat dans une zone géographique spécifique. L'étendue de l'habitat est évaluée en prenant en compte sa présence dans différentes régions, pays ou régions biogéographiques.

L'état de conservation et la tendance d'un type d'habitats naturels ou d'une espèce d'intérêt communautaire doivent être évalués pour chaque région biogéographique où il/elle est présent(e). La Wallonie est couverte par les régions biogéographiques continentale (RBC) (70% du territoire) et atlantique (RBA) (30%). Des grottes sont présentes dans ces deux ensembles, bien qu'elles soient très peu nombreuses et de petite taille dans la zone atlantique.

En Région wallonne, le niveau de précision de la cartographie des sites souterrains est élevé et disponible via les couches numériques de l'Atlas du Karst. On possède donc les informations nécessaires au calcul du "Range" et de son évolution future.

5 Conclusion

Au cours de cette synthèse, on a précisément décrit quels habitats doivent être repris sous la dénomination de l'habitat 8310 et ses spécificités.

Le zonage (zones d'entrée, de transition et profonde) ainsi que les micro-habitats rencontrés dans les compartiments aériens et aquatiques des réseaux souterrains sont synthétisés sur base de la littérature. Les micro-habitats peuvent être plus ou moins finement détaillés, mais pour la méthodologie que nous proposons d'appliquer, une sélection de micro-habitats (résumés dans le tableau 1) devront être localisés sur les cartes de topographie. Pratiquement, on indique directement un code sur une carte sur le terrain. Le report subséquent dans une grille d'évaluation, distinguant les zones, permettra de calculer un indice de diversité structural. La numérisation de ces micro-habitats sur carte topographique pourra être envisagée pour faciliter les ré-évaluations futures. Toutefois un usage en SIG de ces localisations semble trop complexe pour être implémenté dans la méthodologie.

Annexe 1 :

Différents habitats souterrains (hors 8310) pouvant abriter une biodiversité cavernicole important

1. Cavités artificielles - Mines et carrières souterraines

Le sous-sol wallon est particulièrement riche en roches et minerais divers. Il a été exploité à cette fin et de très nombreuses cavités subsistent : des anciennes exploitations de houille, des mines métallifères, des carrières souterraines, ...

L'exploitation de la pierre calcaire, de la dolomie, de la craie, a permis le développement économique des régions calcaires. Elles fournissent actuellement également de très importantes ressources en eau (plus de 60% des eaux souterraines captées en Wallonie). L'extraction du minerai de fer à Musson et Halanzy, en Lorraine, les exploitations de tuffeau de la montagne Saint-Pierre à Visé (Dethier & Willems, 2005) et de craies phosphatées dans la région de Cuesmes et Mons, mais encore les charbonnages et une multitude d'autres sites s'étendent en réseaux de quelques mètres à plusieurs kilomètres (ou dizaines de km). Les galeries des mines métallifères ont des parcours sinueux et généralement étagés à l'image des cavités naturelles. L'extraction du schiste dans les ardoisières a créé des vides dont les volumes peuvent rivaliser avec ceux des plus grandes salles de nos grottes touristiques.

Le creusement de ces mines et autres carrières souterraines a très souvent atteint ou dépassé largement le niveau hydrostatique de la nappe phréatique. Leur exploitation nécessitait un pompage (exhaure), et lorsque les pompes se sont arrêtés, à la fin de l'exploitation, le niveau piézométrique est remonté, noyant complètement certains de ces réseaux.

Pour ce qui concerne la faune invertébrée, on trouve des espèces cavernicoles dans les cavités artificielles pour autant qu'elles soient creusées dans des massifs contenant déjà des troglobies et des stygobies et que les fissures de la roche, les puits ou autres regards sur les eaux

souterraines leur donnent accès aux galeries creusées par l'homme. Il faut également que les conditions microclimatiques (température basse et constante, humidité toujours proche de la saturation) soient favorables à la faune. Les cavités artificielles deviennent alors des observatoires remarquables de la faune souterraine. La faune de la galerie minière de la Chartreuse à Liège (Dethier, 2016 - Rochez & Dethier, 2005), de la mine du Hasard à Hermalle-sous-Argenteau, de quelques araines (galeries d'exhaure) de charbonnage et alunières, ont été particulièrement bien étudiées ces dernières années (Dethier, 2022).

Cependant, les carrières de craie ou de tuffeau comme à Visé, nettement plus sèches, ne renferment que des espèces cavernicoles banales, accidentelles, peu spécialisées ou simplement obscuricoles. A contrario, les populations de chauves-souris, avec 6000 à 7000 individus et une dizaine d'espèces recensées chaque année, trouvent dans les galeries artificielles de la Montagne-Saint-Pierre, le plus important réseau de gîtes d'hibernation de Wallonie.

2. Puits, galeries de captage, aqueducs, drains

Les eaux souterraines représentent environ 97% des eaux douces sous forme liquide à la surface de notre planète : c'est donc le plus grand des habitats dulçaquicoles. Cela représente aussi une ressource essentielle pour les humains, qui est partiellement exploitée.

Les infrastructures telles que puits, galeries de captage nécessaires à cette exploitation en contact direct avec la nappe phréatique représentent un point d'accès et surtout un regard sur ce biotope quasiment inaccessible autrement.

Ces infrastructures représentent également un habitat à part entière pour la faune stygobie. L'étude Pascalis (Martin et al. 2004), centrée sur cette faune méconnue, a notamment échantillonné pas mal de puits, de drains et de captages, utilisant ceux-ci comme autant de regards sur la zone saturée des aquifères calcaires.

3. Glacières, tunnels, souterrains, ouvrage d'art et militaires

Le milieu souterrain artificiel wallon ne se limite pas aux sites d'extraction. Il concerne également divers types de constructions : des casemates et autres forts souterrains, des glacières, des tunnels, des fours à chaux, etc. qui sont autant d'habitats potentiels pour la faune cavernicole.

Tous les ouvrages enterrés sont susceptibles d'accueillir la faune cavernicole. Le cas des infrastructures militaires ou ferroviaires abandonnées est bien connu principalement des chiroptérologues. Les espaces sous les corniches des ponts en béton, au fond des drains, dans les piles creuses ou les vousoirs ou encore les espaces entre les moellons disjoints sont autant de micro-habitats aussi colonisés par les chiroptères.

4. Milieu souterrain superficiel (MSS)

Cet habitat est représenté par l'ensemble des micro-cavités inter-communicantes dans les éboulis stabilisés de versants de vallées et de pieds de falaises ou dans des fissures de la zone superficielle de la roche mère, isolé de la surface par un sol, ce qui lui confère les caractéristiques climatiques et le type de ressources des grottes. Il mesure en général quelques mètres d'épaisseur et la dimension des micro-espaces va de quelques millimètres à quelques centimètres (Culver & Pipan, 2008).

Il est bien représenté dans les roches qui se délitent facilement par gélifraction telles que les schistes. Il est également présent dans le calcaire. Il est cependant limité (dans l'espace) dans les éboulis calcaires de pied de falaises en raison du colmatage des micro-espaces par des argiles de décalcification.

Cet habitat est totalement obscur et présente une température modérée, à oscillations lentes au cours de l'année, à humidité relative élevée, avec peu ou pas de ventilation. Les ressources alimentaires proviennent du sol et du couvert végétal sous forme de matières organiques transférées dans l'habitat par les eaux météoriques, et d'invertébrés du sol migrant en profondeur.

Le MSS est peuplé par une faune souterraine spécialisée, à base d'invertébrés terrestres aveugles et dépigmentés, renfermant des espèces endémiques, identiques à celles des grottes ou propres à cet habitat, et d'invertébrés moins spécialisés vivant également dans d'autres habitats tels que le sol et ses annexes. Il reste jusqu'à présent peu étudié (Mammola et al, 2016) alors que les aires de répartition de nombreuses espèces souterraines endémiques s'étendent à la fois dans le MSS et dans les grottes et leurs réseaux de fissures. La communauté du MSS renferme un contingent d'espèces du sol, qui servent de proies aux carnassiers souterrains ou qui consomment des espèces souterraines. Cette biodiversité est abondante et riche, en raison des ressources plus abondantes dans le MSS que dans les grottes au sens strict.

Une des fonctions très importantes de ce MSS pour la biodiversité souterraine est la faculté de certains organismes de transiter d'une cavité à l'autre via le MSS. Ceci contribue au brassage génétique des populations d'espèces terrestres cavernicoles et permet une (re-) colonisation de certains sites souterrains depuis cette couche superficielle (Ginet & Juberthie, 1988).

Les nombreux habitats qui surmontent le MSS (forêts, pelouses, prairies, etc.) lui fournissent les ressources alimentaires, transférées dans cet habitat souterrain par la percolation des eaux de pluie.

5. Habitat interstitiel des cours d'eau - habitat hyporhéique

La zone hyporhéique est une zone située en dessous et à côté du lit d'un ruisseau d'eau douce, où les eaux souterraines profondes se mélangent avec les eaux de surface. Cette région est un compartiment sous-fluvial, un habitat écologique du système de cavités dans la roche sédimentaire non consolidée (le sédiment fluvatile).

La dynamique de l'écoulement dans cet habitat hyporhéique est reconnue pour influencer les interactions entre les eaux superficielles et souterraines. Selon la géologie et la topographie sous-jacente, la zone hyporhéique peut ne mesurer que quelques centimètres de profondeur, ou s'étendre jusqu'à 10 mètres de profondeur latéralement ou vers le bas.

La zone hyporhéique fournit des habitats importants pour de nombreux organismes de l'eau courante. En plus des nombreuses espèces qui habitent le sol aquatique (benthos) ou les eaux souterraines et passent

certaines périodes de leur vie dans le milieu interstitiel hyporhéique, certaines espèces y vivent exclusivement ou préférentiellement. Cet habitat, à l'instar du MSS pour les espèces terrestres, joue un rôle important de connectivité pour les espèces d'invertébrés aquatiques, qui y trouvent un moyen de se disperser et de coloniser des aquifères voisins (Malard, 2002).



VARIABLES ABIOTIQUES A SUIVRE POUR CARACTERISER LE BON ETAT DES HABITATS SOUTERRAINS

1 Introduction

Toute politique de conservation d'un habitat particulier et/ou de sites naturels doit s'accompagner d'une évaluation régulière des impacts des mesures de conservation et d'aménagement adoptées (Jones, 2013).

L'évaluation du « bon état » du milieu souterrain doit non seulement se baser sur des inventaires biologiques mais aussi sur l'analyse des paramètres physico-chimiques et micro-climatiques déterminant du milieu étudié (Maciejewski, 2016). Les caractéristiques et le bon état du milieu peuvent être estimés, partiellement mesurés et suivis dans le temps à l'aide de ces paramètres physico-chimiques.

Les causes de dégradation des conditions de conservation d'un site souterrain sont multiples (voir notice sur les menaces rédigée dans cette même étude). Elles peuvent être directes et ponctuelles ou au contraire résulter d'une lente accumulation d'effets diffus. Les limiter aux seules visites souterraines (dérangement) est réducteur, or c'est cette approche qui a été trop longtemps exclusivement appliquée pour la conservation du milieu souterrain. La cavité doit être replacée dans son contexte hydrogéologique et l'évaluation doit concerner les activités et l'occupation du sol en surface dans le bassin en connexion avec le site souterrain (De Broyer, 1995).

Au vu de la dérive climatique actuelle il faut s'interroger sur l'impact de ce réchauffement sur l'habitat et la conservation des espèces souterraines (Sanchez-Fernandez, 2021). L'analyse régulière et l'enregistrement des paramètres climatiques sous terre peut contribuer à ce suivi.

Dans tout habitat, la biodiversité est notamment influencée par un ensemble de paramètres abiotiques qui caractérisent le milieu. Ce sont ces variables physiques et chimiques (Cigna, 2002) qui vont pour partie déterminer la possibilité de survie et de développement de certaines espèces, dont certaines réclament des conditions bien particulières et parfois très spécifiques pour survivre, se reproduire et se développer.

L'absence de lumière, de producteurs primaires et la stabilité climatique (saturation en humidité et température présentant de très faibles variations au cours de l'année) constituent des caractéristiques spécifiques qui rendent l'écosystème souterrain si particulier. Ces caractéristiques ont, selon les biologistes, un impact prépondérant sur la faune souterraine et la distribution des organismes au sein même de la cavité.

Nous avons passé en revue, sur base de la littérature, différentes variables physico chimiques qu'il serait utile d'intégrer dans une caractérisation du bon état de l'habitat souterrain. Nous avons regroupé dans cette note :

- les paramètres climatiques (température et humidités),
- les éléments permettant d'évaluer la qualité de l'eau en grotte
- les analyses concernant la phase gazeuse (atmosphère de la cavité).

Selon le paramètre analysé, celui-ci pourra permettre d'identifier une série de « niches » présentant des conditions différentes au sein d'une même grotte, une pollution, une connexion avec communication rapide entre la surface et le milieu souterrain, (Hoyos, 1998).

Les éventuelles fluctuations temporelles importantes de certaines de ces variables méritent d'être suivies avec une attention particulière. En effet, le milieu souterrain se caractérisant par sa stabilité, elles sont l'indice d'un dérèglement temporaire ou durable qui peut avoir une incidence sur la biodiversité de ce milieu.

Au terme de chaque chapitre nous proposons, dans une approche pragmatique, les paramètres à suivre en priorité en vue de caractériser le bon état d'un habitat souterrain.

2 LA TEMPERATURE : VARIABLE ESSENTIELLE DU CLIMAT SOUTERRAIN

Les mesures de température (idéalement en continu et simultanément en plusieurs endroits de la cavité) font partie des analyses assez simples et très instructives pour le monitoring d'une cavité. Ce profil thermique influence fortement la circulation des masses d'air dans la cavité, mais aussi les échanges avec l'extérieur. Une modification brusque de la T° dans ce milieu caractérisé par sa stabilité peut servir de « signal d'alarme »¹ témoignant d'un déséquilibre et d'une perturbation qui pourra s'accompagner d'un impact biologique.

Combinées avec d'autres paramètres abiotiques, elles peuvent permettre de délimiter différentes zones et micro-habitats au sein d'une même grotte. Lorsque la réalisation d'une topographie de ces profils physico-chimiques formant des niches distinctes sera effectuée à l'échelle de la grotte, on pourra les confronter à la distribution des espèces et de la biodiversité (Luighi & Manenti, 2017), et ce au sein d'une cavité ainsi qu'entre cavités distinctes d'un même ensemble hydrogéologique.

2.1 La température comme variable pivot

Une des différences les plus notables par rapport aux habitats de surface est la grande stabilité de la température au cours de l'année, qui fluctue faiblement autour d'une valeur pivot².

C'est particulièrement vrai si on excepte les zones d'entrée des cavités, influencées par les fluctuations extérieures. Cette stabilité dépend aussi de la morphologie de la grotte ; ainsi une cavité à une seule entrée et de type couloir horizontal ne connaîtra que très peu d'écoulements d'air... et donc d'échanges de chaleurs. Pour des cavités plus « complexes » présentant plusieurs entrées et des différences d'altitudes notoires, des échanges d'airs peuvent se produire (type tube à vent, trou qui fume et boyau soufflant ou absorbant) pouvant entraîner des échanges de température non négligeables entre l'intérieur du site et l'air extérieur - plus froid en hiver et plus chaud en été (Piron et al., 2007). Ces échanges peuvent aboutir (tant dans des cavités naturelles que dans des sites souterrains artificiels) à une zonation, au sein d'une même cavité offrant des « profils thermiques différents », convenant potentiellement à des communautés biologiques spécifiques³.

Des mesures régulières de température⁴ et la prise en compte de leurs fluctuations font aujourd'hui partie des programmes de monitoring mis en place dans les cavités (en particulier dans certaines grottes touristiques et laboratoires souterrains, comme la France en connaît une trentaine actuellement). Vu l'impact que peuvent avoir certains aménagements (fermetures, creusement de couloirs et/ou de galerie d'accès supplémentaires⁵) sur ces échanges

¹ Ces mesures de T° (combinées à l'enregistrement de certains gaz) sont réalisées en continu dans un certain nombre de grottes touristiques et de grottes ornées (notamment en France et en Espagne). La fréquentation de la cavité (nombre de visiteurs par jours) peut être conditionnée à ces valeurs mesurées pour limiter au maximum le dérèglement entraîné par une trop grande présence de visiteurs sous terre.

² Équivalent à la température annuelle moyenne en surface (MAST)

³ Espèces différentes et/ou fonctions différentes pour une même communauté. Des études récentes montrant que la faune souterraine est loin d'être statique au sein d'une cavité et qu'elle peut bouger au cours des saisons pour rechercher des conditions particulières et/ou s'adapter à des changements soudains (Bancila et al, 2018).

⁴ À réaliser tant en hiver qu'en été et en plusieurs endroits du réseau souterrain, mais aussi à l'aide de mesures automatiques pour éventuellement mettre en lumière des fluctuations sur des plus courtes périodes.

⁵ Comme c'est le cas dans la plupart de nos grottes touristiques (telle que la grotte de l'Abîme à Comblain, grotte de la Merveilleuse à Dinant, grotte de Han, grotte de Hotton et son puits d'accès).

d'air, l'incidence de ces modifications sur « l'écosystème grotte » doit être évalué au préalable⁶.

2.1.1 Facteurs ayant une incidence sur la température des cavités

- **L'altitude et la localisation géographique de la grotte**

Suivant l'altitude et la latitude à laquelle se situe la cavité, les fluctuations saisonnières des températures en surface sont +/- fortes. Au niveau local qui nous intéresse, une cavité présentant deux entrées à des hauteurs (et/ou avec des expositions différentes) peut voir se créer une différence de température des masses d'air qui va alors induire des échanges et une aérologie (courants d'air, déplacement de masses d'air) très particulière qu'on peut essayer d'appréhender sur base du Delta T des masses d'air en présence.

- **Présence d'eau (rivière souterraine) dans la cavité**

La température mesurée dans une cavité est non seulement influencée par celle des masses d'air qui y pénètrent, mais aussi par les eaux qui s'y infiltrent de manière concentrée via un chanoir dans un réseau souterrain⁷. L'infiltration diffuse formant l'eau de percolation, rejoint la cavité plus lentement. Son temps de séjour dans les couches supérieures de l'épikarst, lui permet de s'équilibrer progressivement avec la température de sol ; l'effet sera donc beaucoup plus faible et tamponné sur la température de la grotte.

L'effet thermique (refroidissant ou réchauffant) de la rivière souterraine provenant de la surface

est significatif lorsque les conditions à l'extérieur sont « extrêmes » (gel ou réchauffement en plein été⁸), que les débits sont relativement importants et que la perte se fait de manière concentrée et rapide. L'incidence de l'eau sur la température de l'atmosphère de la cavité, tend à se réduire vers l'aval au fur et à mesure que l'échange thermique air-eau amène la rivière en équilibre avec la température⁹ des parois de la grotte.

Les cavités contenant des remontées d'eau hydrothermales présentent un tout autre profil thermique. La température de ces eaux n'est plus liée au climat en surface. Pour les cavités présentant une source chaude dont la température dépasse largement toute l'année celle de l'air extérieur, un flux d'air continu chaud et très humide soufflera vers l'extérieur toute l'année¹⁰.

- **Les circulations et échanges de masses d'air**

La fluctuation de la température dans une cavité est le facteur déterminant induisant **une convection des masses d'air**¹¹ ainsi que des flux d'air grotte <> surface¹². C'est donc en fonction de cette différence de température et de la morphologie de la cavité que l'on va avoir des « souffles » à la sortie/entrée des cavités. Dans de nombreux cas les flux d'air grotte <> surface vont s'inverser entre l'été et l'hiver suivant ainsi l'inversion du delta température entre la cavité et l'extérieur (Lismonde, 2002).

Pour les grottes à une seule entrée, la cavité souffle (de l'air chaud en hiver au niveau de la voûte) et aspire (de l'air froid depuis l'extérieur au sol) quasi simultanément. En effet, l'air sortant de la grotte crée une dépression qui provoque un appel d'air et une aspiration de masses d'air extérieures.

⁶ Si la pose de porte est prévue sur une cavité dont l'entrée était préalablement ouverte, il est utile de faire une campagne de mesures avant et après son placement pour en évaluer l'impact.

⁷ Phénomène bien connu au trou d'Haquin (Assesse) : en hiver le ruisseau disparaissant sous terre est à 0°C. Dans sa progression dans la cavité, il développe tout autour de lui un "cône de froid" jusque dans la salle de la grande cascade [à 200 m de l'entrée].

⁸ Observation en été 2020 dans le « lac souterrain » de la grotte de Bohon, où les eaux provenant directement de l'Ourthe (via la perte du Renard) sont montées jusqu'à 24°C... entraînant un réchauffement général de l'atmosphère de la grotte dépassant les 19°C !

⁹ La température d'une rivière souterraine sert dans plusieurs études hydrologiques d'indicateur du temps de séjour de ces eaux dans le milieu souterrain.

¹⁰ Ce profil thermique est typiquement rencontré aux Galeries de mines de Baudour. Les deux couloirs parallèles et plongeant à 30° dans les schistes rencontrent après une centaine de mètres une nappe d'eau thermale (48°C lors de nos mesures en 2002). Les échanges d'air avec la surface sont violents (surtout en hiver), et la température de l'air reste dans toute la galerie supérieure à 35°C.

¹¹ Masses d'air présentant une différence de température, qui induit une différence de densité et provoquant un échange et une circulation de ces masses s'il n'y a pas d'obstacle physique pour les entraver.

¹² Par rapport aux mesures de vitesse du vent ou des courants d'air (à l'aide d'un anémomètre) les fluctuations de température peuvent être enregistrées de manière beaucoup plus simple, avec plus de précision et grâce à un équipement laissé sur place (sans intervention d'un opérateur).

- **La présence humaine et son incidence sur la température**

Dans les cavités non aménagées pour le public, cet effet n'est pas mesuré et il peut être estimé comme négligeable. Il a cependant fait l'objet d'un suivi assez pointu dans un certain nombre de grottes touristiques. Dans celle-ci, la chaleur dégagée par de larges groupes de visiteurs peut localement induire une hausse de la T° dans la grotte (Sebela, 2019).

- **Implication biologique des flux d'air en grotte**

Pour bon nombre d'espèces vivant sous terre, il existe des températures optimales et des fourchettes de tolérance. Par ailleurs, l'échange de masses d'air a un effet direct sur l'humidité et la condensation dans la cavité. Un air très froid rentrant dans la cavité va provoquer une dessiccation de l'air.

Les flux d'air et les variations qu'ils entraînent en termes de température et d'humidité ont une incidence sur les organismes cavernicoles. En l'absence de variations de lumière dans les grottes, ce sont ces modifications et leur aspect saisonnier qui rythment la vie des organismes souterrains et qui sont à l'origine du déclenchement de certaines phases de **cycle de vie** des organismes¹³.

2.1.2 Intérêts de suivre les températures pour évaluer l'état de l'habitat souterrain

La relation entre le profil thermique d'une cavité, son bon état de conservation et encore plus sa biodiversité spécifique observée (ou potentielle - à savoir le type d'organismes pour lequel la cavité pourrait convenir comme habitat) est complexe et relativement indirecte. Il s'agit d'un paramètre parmi bien d'autres qui caractérisent cet habitat à côté d'éléments aussi variés que :

a/ le contexte géographique régional dans lequel se trouve la cavité

b/ la chaîne trophique tronquée et la présence de nourriture dans la cavité

c/ les perturbations qu'a pu connaître la grotte (surfréquentation, pollution, modification du régime hydrique...)

d/ présence d'autres sites du même type dans un voisinage pas trop éloigné pour permettre sa recolonisation...

Prédire la biodiversité d'un site sur la seule base de ces variables climatiques n'est pas possible. Il s'agit cependant d'informations objectives et assez facilement mesurables qui permettent de caractériser une grotte (à savoir si elle est froide, si elle présente un profil hygrométrique favorable, si elle comprend des coupoles d'air chaud ou des pièges à air froid). Cette « topographie climatique » peut ensuite être mise en parallèle avec les « besoins » des communautés souterraines et les différentes phases de leur développement : hivernage, reproduction, nourrissage, ...

De nombreux chercheurs s'accordent à dire qu'une modification soudaine des conditions microclimatiques (provoquée par ex. par l'ouverture d'une seconde entrée dans une grotte qui modifiera les échanges de masses d'air et le profil thermique) peut entraîner des conséquences directes et potentiellement irréversibles sur la faune de la cavité (il est recommandé que ce type d'aménagement modifie le moins possible ces équilibres assez fragiles et qu'il s'accompagne de mesures « avant/après » pour en mesurer l'incidence).

Cette problématique de vulnérabilité et d'intolérance à une modification d'un paramètre comme la température constitue aujourd'hui une préoccupation supplémentaire dans la perspective des changements climatiques et de leur possible répercussion sur le milieu souterrain (Mamola et al, 2019 ; Colado, 2021)

Enfin une comparaison rigoureuse entre les données biologiques et microclimatiques au sein d'une même cavité (et entre plusieurs sites souterrains d'un même ensemble biogéographique) permettrait de confronter la distribution des organismes aux différents patterns micro-climatiques au sein des grottes étudiées¹⁴. Quelles sont les variables abiotiques clés et leurs valeurs optimales pour pouvoir expliquer (et éventuellement prévoir) l'absence ou la présence de certaines des communautés souterraines qui font la richesse biologique de la grotte ? Ce genre d'approche a l'avantage de mettre en parallèle la biodiversité et les caractéristiques particulières de l'habitat souterrain et s'inscrit dans une démarche de gestion / conservation « moderne », associant les caractéristiques du milieu aux organismes qu'il y a lieu de protéger.

¹³ Période à laquelle il faut sortir d'hivernation – période la plus favorable pour la reproduction...

¹⁴ Pour les organismes invertébrés souterrains, les inventaires et données biologiques sont vraisemblablement trop incomplets pour réaliser cette corrélation entre variables environnementales (abiotiques) et les données de biodiversité et d'abondance. Cette expérience pourrait toutefois être tentée avec les relevés chiroptères (heat map) ?

2.2 Méthode et suivi à proposer pour les températures en grottes

A l'exception des zones proche de l'entrée et/ou de secteurs dans la cavité directement influencés par une rivière souterraine, la température dans les cavités fluctue peu au cours de l'année. Elle se fixe autour d'une valeur « pivot » correspondant à la température annuelle moyenne en surface.

Cette grande stabilité contribue à l'attractivité de la cavité pour les espèces troglodytes qui viendront y chercher refuge¹⁵. Elle est également indispensable pour certains des organismes inféodés au milieu souterrain qui ne tolèrent qu'une gamme de T° étroite.

La température constitue une mesure assez simple et riche en renseignements lorsqu'on veut monitorer une grotte. Depuis une vingtaine d'années les datalogger T° ont fait beaucoup de progrès. Ils sont devenus plus précis, plus robustes (et donc peuvent convenir à un usage en grotte), plus compact, meilleur marché... tout en proposant des interfaces simplifiées et des capacités d'enregistrement¹⁶ bien plus importantes (Burlet, 2015).

En grotte et pour faire du monitoring, la variable T° doit idéalement être mesurée :

- en continu (pas d'une heure par ex). pour pouvoir enregistrer les fluctuations sur différentes échelles de temps
- en différents points de la cavité simultanément pour pouvoir y différencier des zones « chaudes et froides » et déduire sur cette base (en tenant compte de la morphologie des galeries) les écoulements d'air.
- dans l'atmosphère à l'intérieur de la cavité, à l'entrée (pour avoir un point de comparaison avec l'extérieur) et dans les masses d'eau de la grotte¹⁷.

Le suivi de la T° en grotte s'inscrit également dans les préoccupations écologiques actuelles à propos

des changements climatiques, du réchauffement général et des conséquences sur la biodiversité. Un changement à moyen terme des températures moyennes au sein d'un site constitueront un témoin très clair de ces changements globaux.

Enfin, une variation soudaine et inhabituelle de la température dans la cavité peut constituer un efficace « signal d'alarme » d'une modification du milieu. Ce signal peut éveiller l'attention des gestionnaires du site et amener les actions de conservation nécessaires pour éviter un impact irréversible sur l'écosystème grotte.

3 EVALUATION DE LA QUALITÉ DES EAUX SOUTERRAINES

3.1 Introduction

L'estimation de la qualité physico-chimique d'une eau et de son effet sur les organismes qu'elle contient nécessite des analyses et de multiples recherches pour mieux appréhender les paramètres écologiques déterminant les bonnes conditions de vie pour la biodiversité des eaux souterraines (Thulin & Innova, 2008).

Si la littérature et la législation (Directive Cadre sur L'Eau 2000/60CE) mentionnent explicitement la bonne qualité biologique des eaux de surface comme un objectif prioritaire à atteindre, ce critère écologique n'est pas repris pour les eaux souterraines. C'est là un frein majeur à l'étude et à la protection de la biodiversité des eaux souterraines et au développement du recours à la faune aquatique souterraine comme (bio)indicateur de la qualité des nappes. Les recommandations¹⁸ de l'étude PASCALIS (2001-2004) insistent d'ailleurs sur la nécessité d'étendre le bon état écologique de l'eau également aux masses d'eau souterraines (De Broyer, 2004). Pour les nappes et les eaux souterraines, seule une gestion quantitative durable¹⁹ et le respect de la qualité chimique sont imposés aux États membres (Lequien, 2019).

¹⁵ La fraîcheur et l'humidité en été lorsqu'il fait trop sec à l'extérieur et une certaine chaleur en hiver alors qu'il gèle à l'extérieur.

¹⁶ Les chercheurs et techniciens de l'IRScNB (voir Burlet 2015) ont ainsi mis au point en 2016 le thermomètre « Niphargus » spécialement conçu pour des mesures en milieu souterrain. Cet équipement qui ne pèse que quelques dizaines grammes est totalement autonome (piles) et permet de mesurer et d'enregistrer plusieurs [de] milliers de valeurs. Si on lui fixe un pas horaire raisonnable, ce matériel une fois en place pourra suivre le profil thermique en un point de la grotte pendant plus d'un an !

¹⁷ Dans un gour[s] cette mesure aura peu de sens, car l'eau y est stagnante et sa température s'équilibrera avec celle de la cavité. Par contre, une percolation très active et/ou une rivière souterraine constituent des supports d'échange avec l'extérieur et peuvent influencer localement le profil thermique de la cavité.

¹⁸ Action plan for the conservation of groundwater biodiversity, cloturant l'étude en question.

¹⁹ en vue d'éviter la surexploitation et l'assèchement des masses d'eaux souterraines... non seulement comme ressource (eau potable) mais aussi pour leur fonction essentielle pour un grand nombre d'habitats dont les zones humides dont ils assurent l'alimentation.

Notre courte synthèse s'inspire pour partie des méthodes et des critères utilisés pour les eaux de surface (et dans certains cas pour les eaux "potabilisables") pour lesquelles il existe des normes écologiques et chimiques. Lorsqu'une eau dépasse certaines valeurs pivots, cela indique une pollution et/ou une altération de sa qualité et potentiellement de l'écosystème qui y est associé... donc aussi de sa « fonction d'habitat » pour la biodiversité que nous tentons d'estimer. Lorsqu'une eau souterraine est mise en contact direct avec les eaux de surface, elle doit être considérée comme plus vulnérable, car elle ne bénéficie plus de la protection et du filtre que représente le sol, les polluants de surface pouvant directement rejoindre la nappe (Hahn et al., 2007).

Au-delà du dépassement de valeurs seuil, il faut aussi être attentif à toute variation marquée et brusque de certains paramètres. Les eaux karstiques, à l'image du milieu souterrain en général, se caractérisent par une grande stabilité. Une fluctuation forte d'un ou de plusieurs paramètres physico-chimiques est un indice de perturbation du milieu. Celui-ci pourra avoir des conséquences tant sur la qualité des eaux que sur la faune qu'elle contient. Plus généralement, l'eau souterraine interagit avec la cavité qu'elle traverse et pourra donc également avoir une incidence indirecte sur la faune terrestre.

Pour les eaux potables, les analyses portent sur pas moins de 50 substances différentes (Rouelle et al., 2012). Dans une approche pragmatique, nous nous limiterons à présenter seulement les paramètres les plus courants et... qui peuvent être relativement facilement mesurés dans le milieu souterrain. Une bibliographie sélective en fin de note permet d'approfondir la réflexion.

3.2 Paramètres physico-chimiques

3.2.1 la turbidité (transparence)

Ce paramètre varie selon la présence et la concentration de composés colloïdaux (argiles, débris de roche), de matière organique (micro-organismes), d'algues ou de pollutions qui viennent troubler les eaux. Le degré de turbidité est lié à cette charge en suspension, mais aussi à l'agitation de l'eau (le courant), la quantité d'oxygène dissous, ou le pH (Miljojkovic et al., 2019).

Pour la mesurer, on utilise un turbidimètre qui enregistre la résistance rencontrée par un faisceau lumineux traversant le liquide turbide en question. Les appareils de terrains utilisent la méthode normalisée NTU (Nephelometric Turbidity Unit) par spectrométrie. On peut également estimer la quantité de la **matière en suspension (MES)** dans les eaux par filtration d'un litre d'eau et pesage des résidus séchés. Le résultat s'exprime en mg/l. (On estime par exemple qu'une personne rejette en moyenne 90 grammes par jour de MES dans ses eaux usées).

- NTU < 5 → eau claire
- NTU < 30 → eau légèrement trouble
- NTU > 50 → eau trouble.

Du point de vue écologique (pour les eaux de surface), une turbidité importante entraîne une réduction de la transparence de l'eau, limitant la pénétration du rayonnement solaire utile à la vie aquatique (photosynthèse). Ces matières en suspension peuvent également poser des problèmes à certains organismes filtrants.

La turbidité dans les eaux est directement liée au débit et aux fortes précipitations dont l'intensité augmente ces dernières années. Avec les modifications des pratiques culturelles et les aménagements de territoire, l'imperméabilisation des sols entraîne l'augmentation du ruissellement et de l'érosion. Les changements climatiques induisent une répartition plus irrégulière des précipitations avec une hausse du ruissellement mobilisant des particules fines (argiles/limons), entraînant une hausse notable de la turbidité.

Dans les eaux karstiques, vu la connexion directe (via les pertes) des eaux chargées en particules en suspension en direction des rivières souterraines, les hausses de températures peuvent être très fortes et s'accompagner de dépôts (alluvions) qui, au cours du temps, peuvent aller jusqu'à un colmatage de certains réseaux. Dans les captages, cette donnée est souvent mesurée en continu car au-delà de l'aspect esthétique (eau brune), elle est un indice d'une infiltration rapide d'eaux de surface (débordement d'un cours d'eau à proximité, inondations, ...). Ce processus peut en effet s'accompagner d'une contamination par des bactéries et/ou

des métaux. Lorsqu'un captage présente une turbidité élevée, l'eau est considérée comme impropre à la consommation. Cette situation se produit assez régulièrement en période d'inondations lorsque les captages (d'eaux souterraines) sont souillés par des eaux de surface. Nous n'avons pas trouvé les normes NTU pour l'eau de distribution. La législation wallonne signale « En cas de traitement d'eaux de surface, l'exploitant doit viser une valeur paramétrique ne dépassant pas 1,0 NTU (Nephelometric Turbidity Units) dans l'eau au départ des installations de traitement²⁰. »).

En termes écologiques, la turbidité peut avoir un impact (en eaux de surface) lié à la diminution de lumière pénétrant dans l'eau avec une photosynthèse moins efficace. L'apport massif de particules en suspension peut par ailleurs affecter les organismes filtrants. Dans le milieu souterrain, il pourrait y avoir un impact sur la dégradation de la matière organique (Paul & Puls, 1997 ; Pronk et al., 2006), mais nous n'avons trouvé aucun renseignement concernant un effet spécifique sur la faune des eaux souterraines. La turbidité reste un paramètre intéressant pour illustrer une circulation d'eau rapide et une connexion avec la surface, mais **une telle mesure ne se justifie pas pour le protocole d'évaluation de l'état de conservation de l'habitat 8310.**

3.2.2 la température

Ce paramètre essentiel est détaillé au point 2 du présent rapport

3.2.3 la conductivité et la dureté de l'eau

La conductivité électrique²¹ d'une eau mesure le passage d'un courant entre deux électrodes séparées d'un cm. La capacité à faire passer un courant dans un liquide dépend de sa concentration en ions dissous (tel que les sels minéraux notamment). À cette minéralisation naturelle de l'eau (calcium, magnésium, sodium, potassium), liée à la nature de la roche, peuvent s'ajouter les pollutions.

Mesurer conductivité est rapide, précis et simple. Cette mesure se fait directement sur le terrain à l'aide d'un conductivimètre. A titre indicatifs, les paramètres de conductivité naturelle des eaux sont :

- 60 à 100 $\mu\text{S}/\text{cm}$: eaux de pluie
- 50 à 300 $\mu\text{S}/\text{cm}$: eaux peu minéralisées (sols schisteux, volcaniques, granitiques)
- 550 $\mu\text{S}/\text{cm}$ environ : eau du robinet à Chimay (provenance = nappe calcaire)
- 300 à 700 $\mu\text{S}/\text{cm}$: eaux minéralisées (sols calcaires, marneux)
- 700 à 1200 $\mu\text{S}/\text{cm}$: eaux fortement minéralisées (sols gypseux, eaux salées, voire polluées)

Ce paramètre permet de différencier une « eau élaborée²² » d'un écoulement de surface. La conductivité est la « signature » d'une eau ; au sein d'une même cavité, elle permet de différencier l'eau en connexion directe avec la surface de celle qui a eu un temps de séjour dans le sol suffisant pour se minéraliser. Enfin, bien des polluants (organiques et inorganiques) peuvent provoquer une hausse spectaculaire de la conductivité. Au-delà de la valeur absolue, c'est surtout la différence entre deux eaux proches qui sera riche en renseignements.

Parmi les principaux ions contribuant à la conductivité des eaux souterraines de Wallonie, on retrouve le calcium et le magnésium. La somme de ces deux ions permet de **calculer la dureté**²³ de l'eau. La somme des deux éléments constitue le Titre Hydrotimétrique ou degré français (symbole °f ou °fH) sur une échelle de 0 à 40. (1°f = 4 mg/l de calcium ou 2,4 mg/l de magnésium).

Les eaux souterraines dans les cavités résultent souvent d'un mélange de plusieurs origines aux temps de transfert variables depuis la surface et/ou qui proviennent de zones différentes dans le bassin d'alimentation.

²⁰ Arrêté royal relatif à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine qui sont conditionnées ou qui sont utilisées dans les établissements alimentaires pour la fabrication et/ou la mise dans le commerce de denrées alimentaires (M.B. 19.03.2002)

²¹ Correspond à l'inverse de sa résistivité électrique exprimée en ohm/cm

²² Terme abondamment utilisé par Vanden Broeck, Martel et Rahir (VMR, 1910) pour qualifier une eau souterraine qui a séjourné un certain temps au contact de roches solubles (typiquement le calcaire chez nous) et qui a ainsi pu se charger en ions

²³ Dans les roches calcaires (et dolomitiques) cette dureté est élevée. Ce sont d'ailleurs ces deux ions (calcium et magnésium) qui sont très majoritairement à l'origine de la conductivité de ces eaux.

Chacune de ces “provenances” ont des signatures physico-chimiques spécifiques. La conductivité constitue une technique simple et rapide pour les différencier.

Une eau à la composition multiple et complexe²⁴ sera la moyenne des conductivités de chacune des provenances en eau, multipliée par les débits respectifs. Dès lors, la conductivité peut être utilisée comme méthode de traçage pour étudier la provenance ou la vitesse de transfert des eaux. Des pollutions spécifiques peuvent également se marquer par une hausse très nette de la conductivité, si le produit de cette pollution se dissout et forme des ions²⁵. Quelques études ont été réalisées sur la vulnérabilité à la salinité (NaCl) des eaux pour différentes espèces de *Niphargus* (Kokalj et al., 2022). Des études ponctuelles sur les *Niphargus* (en Slovénie) et sur d'autres macro-invertébrés (Kefford, 1998) ont montré une corrélation entre la distribution / abondance de certaines espèces avec la conductivité des eaux où elles ont été prélevées... Nous n'avons pas connaissance de telles études sur les espèces présentes en Wallonie.

La conductivité reste un paramètre intéressant pour mettre en évidence la présence d'eaux d'origines différentes dans une même cavité et pouvoir estimer les connexions plus ou moins rapides avec la surface.

Une conductivité exceptionnellement haute peut aussi être l'indice d'une pollution dans les eaux, l'intrusion d'une source ferreuse ou de remontées de sel. Vu la facilité et la rapidité de cette mesure, elle doit faire partie du protocole d'évaluation de l'état de conservation de l'habitat 8310.

Il existe des sondes (avec datalogger) permettant d'enregistrer les fluctuations de conductivité dans une même masse d'eau au cours du temps (par ex. avec un pas d'une heure). Néanmoins, pour les besoins d'une évaluation écologique, des mesures ponctuelles, répétées en plusieurs endroits et vasques d'eaux différentes présentes dans la cavité, sont à privilégier : elles sont moins coûteuses (en matériel); l'acquisition de la

donnée est directe et elles permettent de différencier des “points d'eau” indépendants au sein d'une même grotte, auquel une faune spécifique peut être associée (notion de micro-niche aquatique dans la cavité).

3.2.4 le pH (mesure de l'acidité de l'eau)

Le pH (potentiel hydrogène) est une mesure du degré d'acidité ou d'alcalinité d'une eau. Il correspond à la concentration d'une eau en ions H⁺, selon une échelle logarithmique qui varie de 1 à 14, le neutre étant fixé à 7. Dans la majorité des milieux aquatiques, le pH doit être compris entre 5 et 8,5 pour permettre le bon développement des écosystèmes. Il existe néanmoins des habitats spécifiques en dehors de cette norme pH²⁶. Une mesure de pH différente de la valeur habituelle du cours d'eau peut être l'indice d'une arrivée de pollution, en générale industrielle, en amont du point de mesure. Le pH varie légèrement selon la température. L'analyse doit donc s'effectuer à 25°C ou avec un pHmètre qui compense automatiquement sa mesure en fonction de la température.

Sous terre, le pH est lié à la fois au CO₂ dissous dans l'eau, formant un acide faible [$\text{CaCO}_3 + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{Ca}^{++} + 2\text{HCO}_3^-$] et à la présence d'acide humique. Dans les deux cas, c'est la présence de la végétation et de la respiration dans la zone superficielle (sol et & épikarst) qui va jouer un rôle prépondérant sur ces concentrations (Lopez, 2009).

Le pH est simple à mesurer sous terre (à l'aide de pHmètres ou de bandelettes colorimétriques). Cependant, dans un environnement karstique, les eaux qui restent en contact avec la roche calcaire seront de toute manière tamponnée par le CaCO₃. Seule une eau pénétrant rapidement sous terre pourra avoir une acidité très différente. Celle-ci sera repérée à l'aide de la conductivité (voir point précédent). Pour la finalité du projet d'évaluation de l'état de conservation de l'habitat 8310, nous estimons que la mesure du pH est quelque peu redondante avec la conductivité (surtout si on mesure aussi les concentrations en CO₂ dans l'air); il n'est donc

²⁴ Par exemple, les eaux de la résurgence de la Vilaine Source à Arbre (Profondeville), étudiées dans le cadre de EPUKarst depuis octobre 2019, sont constituées de la synthèse entre les eaux infiltrées dans 5 chantoirs principaux, combinées avec l'eau provenant de l'infiltration (via la percolation) et du trop-plein de la nappe. Leur conductivité reflète ces différents apports et en constitue la moyenne.

²⁵ C'est notamment le cas des sels de déneigements qui peuvent faire des dégâts importants dans certains écosystèmes fragiles.

²⁶ On pense en particulier aux tourbières des fagnes où ce pH peut descendre sous la valeur de 5 et auquel sont associées des plantes très particulières qui supportent de tels degrés d'acidité, mais peuvent également contribuer à ceux-ci (via les rejets d'acide humique).

pas essentiel de réaliser cette mesure lors d'un **protocole d'évaluation de l'état des grottes**. Nous pourrions **réaliser ces tests sur les 5 cavités témoins** prévues dans le cadre du marché 8310.

3.2.5 l'oxygène dissous (O₂)

La présence d'oxygène dans l'eau est indispensable à la respiration des êtres vivants aérobies aquatiques. Elle s'exprime en mg (d'O₂)/litres ou en pourcentage de saturation. L'oxygène de l'eau est essentiel à l'oxydation des matières organiques et au processus d'épuration qui y est associé²⁷. L'oxygénation des cours d'eau provient d'abord du contact de sa surface avec l'atmosphère. Elle est favorisée par les remous, les turbulences et dépend de la température²⁸.

En cas de **déficit en oxygène dissous**, la faune aquatique peut être menacée d'asphyxie. La teneur en oxygène d'une pièce d'eau varie au cours de la journée (selon la température et l'ensoleillement) et selon la profondeur : elle peut être très faible en eau profonde et atteindre la saturation près de la surface. Une forte présence de matière organique²⁹ à décomposer entraîne une consommation de l'oxygène présent (processus d'oxydation / décomposition) pouvant provoquer une baisse considérable de l'oxygène disponible dans l'eau.

Une eau sans oxygène ne peut pas convenir à la faune aquatique souterraine. C'est donc un paramètre important, mais assez complexe à interpréter. En effet, une diminution du taux d'O₂ dissous est lié à une consommation excessive (oxydation) de cette réserve³⁰.

La présence d'oxygène est utilisée dans les études environnementales comme un indice de pollution organique.

Les sondes de mesure d'oxygène, donnant des valeurs absolues en mg d'O₂ dissous/litre ou en pourcentage par rapport à la saturation, sont assez simple d'usage, mais la mesure doit se faire directement sous terre, dans la vasque à étudier³¹. Selon l'expérience menée dans les projets Pascalis (Malard et al, 2002) et EpuKarst³² dans différentes cavités wallonnes, les concentrations en oxygène dissous dans les eaux souterraines étaient toujours supérieures à 60% de la saturation. Ceci n'est pas le cas avec des eaux stagnantes (par ex. des puits ou des piézomètres). Selon ces dizaines de relevés, il est peu probable qu'on rencontre des conditions anoxiques³³ dans les eaux des grottes wallonnes, sauf en cas de **pollution organique importante**.

Pour l'évaluation de l'état de conservation de l'habitat 8310, il serait néanmoins intéressant de **réaliser cette mesure de O₂ dissous dans les cavités tests** présentant de l'eau. Nous proposons d'y multiplier les mesures dans chaque masse d'eau présente³⁴. Si au terme de cette phase test, les concentrations en oxygène mesurées dépassent systématiquement 70%, on pourrait envisager d'abandonner ce paramètre dans le protocole 8310 proposé au DEMNA.

3.2.6 le potentiel d'oxydo-réduction (ORP)

Le potentiel d'oxydo-réduction est une mesure électronique, en volts, exprimant la réactivité entre eux des éléments et substances chimiques (soit oxydants, soit

²⁷ C'est le principe même des stations d'épurations où l'eau traitée est placée dans des aérateurs dans lesquels de l'oxygène est diffusé pour accélérer le processus de décomposition de la matière organique. Cette décomposition s'accompagne d'une consommation d'oxygène dissous et peut donc (par ex. dans un étang envahi par des végétaux en décomposition) entraîner des problèmes d'eutrophisation.

²⁸ Plus l'eau s'échauffe, moins l'oxygène y est soluble.

²⁹ Lors de la décomposition de cette masse organique, l'oxygène va venir à manquer dans l'eau, modifiant complètement l'écosystème et les organismes pouvant y vivre. Dans des cas extrêmes, le milieu devient réducteur et le cortège des bactéries aérobies est remplacé par des organismes anaérobies.

³⁰ Dans l'eau, la matière organique trop abondante provoque une consommation excessive d'oxygène et l'asphyxie des organismes aquatiques. Le degré de ce type de pollution s'exprime en demande biochimique en oxygène sur 5 jours - DBO5 (voir plus loin).

³¹ Il n'est pas possible de remonter un échantillon en surface pour son analyse (comme c'est le cas pour certains paramètres chimiques), l'eau à analyser risquant de voir sa quantité d'O₂ dissous se modifier lors du transport.

³² Voir www.epukarst.org étude en cours réalisée à la demande de la SPGE et portant sur la protection de la ressource « eau potable » et les fluctuations des concentrations en nitrate dans les eaux souterraines.

³³ En hydrobiologie, l'anoxie correspond à une diminution drastique de la quantité d'oxygène dissout dans les eaux. Elle peut s'accompagner par le développement de bactéries anaérobies qui, en milieu réducteur, peuvent émettre des toxines.

³⁴ Il s'agit d'échantillonner et analyser à la fois les gours, les rivières souterraines, les percolations et les regards sur la nappe, car les caractéristiques de l'eau peuvent différer et correspondre à des micro-habitats indépendants.

réducteurs) présents dans l'eau. En rivière ou plan d'eau de bonne qualité, l'ORP doit s'élever entre 300 et 500 mV. Une faible valeur d'ORP témoigne d'une insuffisance de décomposition d'éléments présents dans l'eau.

Du point de vue de l'écologie des eaux souterraines, les informations fournies par ce paramètre sont redondantes avec l'oxygène dissous (voir ci-dessus), nous privilégions donc plutôt cette première analyse parmi les paramètres à suivre pour les eaux souterraines.

3.2.7 la matière organique (MO)

La matière organique présente dans l'eau est la partie non encore décomposée, constituée d'éléments (végétaux ou animaux) vivants, morts ou encore des déjections d'organismes vivants présents dans l'eau. Cette matière organique peut se rencontrer dans l'eau soit dissoute, soit sous forme de particules visibles. On exprime généralement sa quantité en effectuant une mesure de la *Demande Biologique en Oxygène sur 5 jours (DBO5)*. Elle consiste à mesurer la quantité d'oxygène nécessaire (en mg/l)³⁵ aux micro-organismes pour oxyder (dégrader) la matière organique présente dans un échantillon d'eau d'un litre maintenu à 20°C, à l'obscurité, pendant 5 jours. Au-delà d'une DBO5 de 20 mg/l, le milieu est considéré comme trop riche, ce qui impacte la qualité de l'eau et la vie aquatique³⁶.

L'estimation de la quantité de matière organique contenue dans les eaux se fait de manière indirecte via une DBO5, c'est-à-dire en mesurant la quantité d'oxygène nécessaire pour « brûler » cette matière organique (Nicolas et al., 2013). C'est donc un processus relativement lourd à mettre en place, nécessitant l'accès à un labo et des conditions de prélèvement et de conservation des échantillons assez strictes.

Or du point de vue de la faune aquatique, la présence de matière organique peut entraîner une augmentation du nombre d'individus sous terre car elle correspond à la base de la pyramide trophique. Tant que cette concentration (et sa décomposition) n'entraîne

pas une baisse marquée de l'oxygène, l'incidence sur la faune n'est pas négative. L'aspect à suivre concerne une modification notable (accroissement ou diminution) de cette matière organique pouvant affecter l'équilibre de l'écosystème... Ceci nécessite un suivi dans le temps et une multiplication des analyses qui n'est pas réalisable dans le cadre du programme d'évaluation de l'état de conservation de l'habitat 8310.

Pour des raisons de simplicité, la mesure de l'oxygène dissous (voir ci-dessus) dans l'eau est à privilégier sur la DBO5. La DBO5 est généralement basse dans les eaux souterraines en comparaisons avec les eaux de surface. **Nous écartons donc cette analyse**, plus technique à mettre en place et pas évidente à interpréter, de notre **protocole 8310**.

3.2.8 l'azote sous ces différentes formes chimiques (NH₄, NO₂, NO₃)

L'azote ammoniacal (NH₄⁺) est un bon traceur chimique d'une pollution directe déversée dans une rivière³⁷. En détectant la présence d'ammonium, on peut situer le long d'un cours d'eau les arrivées d'eaux usées car les déjections humaines et animales sont sources d'ammoniac.

Sans apport d'origine anthropique la concentration en ammoniac dans les eaux de surface ne dépasse pas 0,1 mg/l. Sa présence dans l'eau à des concentrations même inférieures 1 mg de NH₃/l entraîne des mortalités piscicoles. L'azote ammoniacal provient à la fois de :

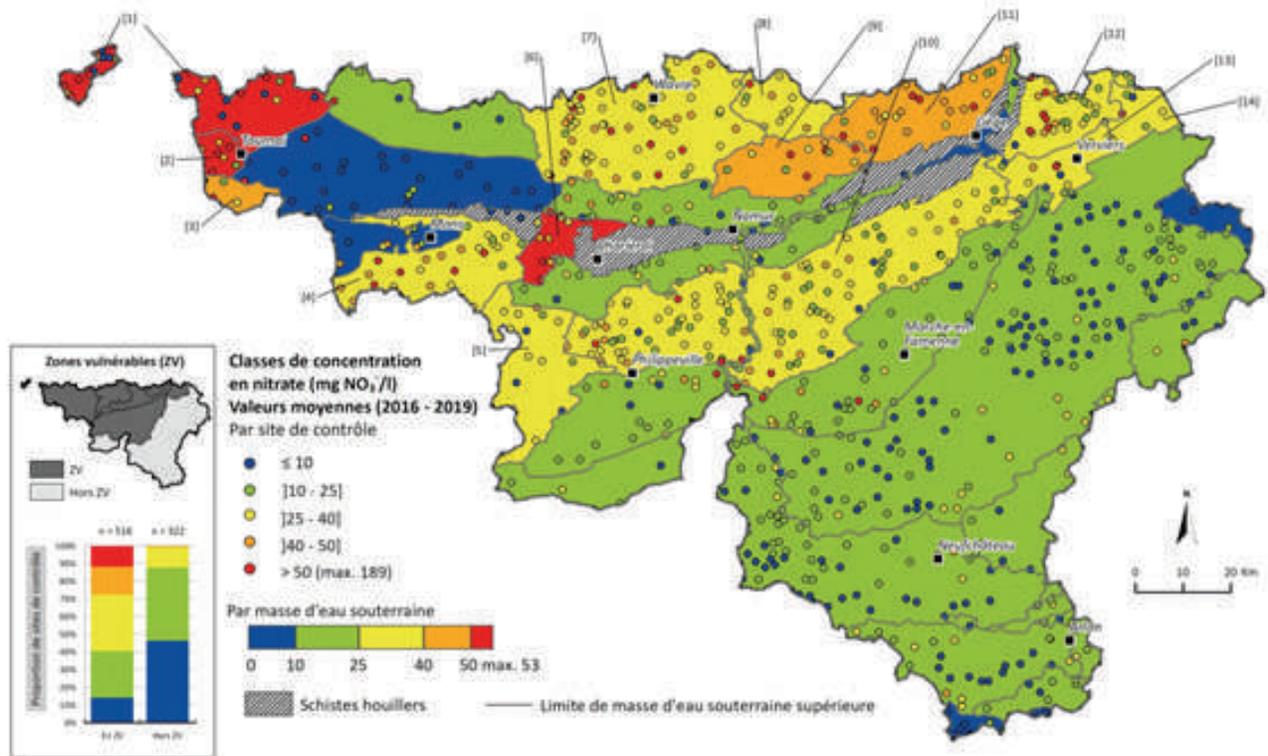
- la décomposition des chaînes carbonées de la matière organique par les bactéries aérobies,
- l'urée rejetée par les animaux (pollution au purin).

Les nitrites : Chez les mammifères, la consommation d'eau chargée en nitrites perturbe la fixation de l'oxygène par l'hémoglobine. Dans les rivières, les nitrites sont toxiques pour les poissons, surtout lorsque le pH de l'eau est inférieur à 7.

³⁵Pratiquement, on réalise une première mesure de la concentration en dioxygène dans l'échantillon d'eau. Puis on répète cette mesure 5 jours plus tard, le différentiel correspondant à l'oxygène consommé.

³⁶Cette mesure est notamment réalisée à la sortie des stations d'épuration avant rejet des eaux traitées dans le milieu récepteur, pour s'assurer de ne pas provoquer une anoxie dans la rivière en aval.

³⁷Cette concentration indique à la fois l'intensité de la pollution mais aussi sa proximité (dans la rivière) avec le point de rejet. En effet, une fois dans l'eau, le NH₄ transforme en nitrite puis en nitrate, par oxydation progressive au contact de l'oxygène présent dans l'eau.



Concentration de nitrates dans les eaux souterraines sur base des sites de contrôle définis en Wallonie – moyenne des valeurs mesurées pour la période 2016-2019 (état de l'environnement Wallon - 2021).

C'est pourquoi des normes ont été fixées pour les nitrates dans les eaux de rejets de stations d'épuration (0,5 mg/l dans l'eau du robinet).

Concentration de nitrates dans les eaux souterraines sur base des sites de contrôle définis en Wallonie – moyenne des valeurs mesurées pour la période 2016-2019 (état de l'environnement Wallon - 2021).

Les nitrates (NO₃) des eaux souterraines et des cours d'eau proviennent principalement :

- de zones agricoles en raison du recours aux engrais azotés,
- des eaux usées et rejets des stations d'épurations (transformation de la matière organique en nitrates),
- du milieu naturel, mais seulement pour une quantité entre 3 et 7 mg/l (quantité tolérable par la flore des cours d'eau ; au-delà, il existe un risque d'emballement du développement des algues, avec eutrophisation).

Bien que les nitrates soient nettement moins toxiques que les nitrites, une norme de 50 mg/l dans l'eau du robinet a été fixée pour des raisons de santé publique.

Dans l'environnement, ce nutriment, en combinaison avec les phosphates, est essentiel à la croissance des plantes et constitue la base des engrais utilisés en agriculture. Le surplus de ces épandages va, via l'eau d'infiltration, rejoindre la nappe aquifère. La Wallonie a défini sur son territoire 6 zones vulnérables aux nitrates du point de vue des masses d'eaux souterraines vu les concentrations qui y sont rencontrées³⁸.

Le nitrate en lui-même n'est pas toxique. C'est la transformation en nitrites qui peut avoir un impact sur la santé pour les animaux et l'homme. Chez l'adulte, l'acidité gastrique réduit le développement de la flore bactérienne et la formation de nitrites. Le **nourrisson** est plus exposé à ce risque en raison de l'immaturité de son système digestif.

³⁸ <https://protecteau.be/fr/nitrate/agriculteurs/legislations/zone-vulnérable>

C'est sur cette base qu'une norme maximale de 50 mg/l de NO₃ a été fixée pour l'eau de distribution, en vue de protéger les personnes les plus fragiles (nourrissons et femmes enceintes).

Du point de vue écologique, le surplus de nitrates (aussi appelé APL pour Azote Potentiellement Lessivable³⁹) peut provoquer une croissance incontrôlée de la végétation et l'eutrophisation⁴⁰. Ce processus nécessite la photosynthèse et ne se produit donc pas dans les eaux souterraines. Certaines recherches ont démontré une perte de biodiversité dans les rivières et lacs lorsque les concentrations en nitrates dépassent certains seuils (Hickey & Martin, 2009), mais il est difficile de différencier cet effet de l'eutrophisation et de la perte d'oxygène.

Quant à la toxicité « directe » causée par des nitrates en forte concentration pour les organismes aquatiques souterrains, peu d'études ont été menées à ce sujet. Les recherches récentes (Di Lorenzo, 2020) indiquent que cet effet est moindre que prévu et qu'il n'y a pas de corrélation significative entre la concentration en nitrates et la biodiversité des aquifères.

Les concentrations en nitrates peuvent être analysées à l'aide d'un spectromètre de terrain. La mesure s'exprime en mg/l et elle nécessite l'usage de réactifs à usage unique⁴¹. Cette valeur est un indicateur de l'incidence des activités agricoles sur la qualité de l'eau à l'échelle du bassin (France Nature Environnement, 2012). Associé à cette agriculture intensive et aux nitrates, on trouve un cortège d'autres substances (pesticides) aux effets beaucoup plus délétères pour la biodiversité, mais beaucoup plus compliquées et coûteuses à analyser. **Pour l'évaluation de l'état de conservation de l'habitat 8310**, il serait utile de quantifier les **nitrates** dans les différentes « pièces

d'eau » présentes dans la cavité⁴². Mesurer les autres formes de l'azote (NH₄⁺ et NO₂) dans les eaux souterraines ne donnera pas de valeur intéressante, car leur oxydation (si l'eau est riche en oxygène) et l'effet de la dilution voit rapidement ces substances passer sous le seuil de détection.

3.2.9 le phosphore et les phosphates

Le phosphore est un élément indispensable au développement de tous les organismes vivants ; mais au-delà d'une certaine concentration, il perturbe le milieu aquatique et l'environnement en général (Daniel & Le Goff, 2002). Une concentration élevée de phosphates dans les eaux n'est pas naturelle. Elle provient :

- des **rejets d'eaux résiduaires**, en premier lieu des déversements urbains, eaux usées, des matières organiques en décomposition, des polyphosphates contenus dans les produits de lessive
- des **pratiques agricoles**, telles que les épandages de lisiers et d'engrais phosphatés.

Entraîné dans les eaux, cet élément va se retrouver dans la nappe et/ou dans les grottes sous la forme de phosphore organique (résidu de la matière vivante) ou de phosphore minéral représenté essentiellement par les orthophosphates (PO₄). Les ions PO₄ sont la forme la plus simple **et la plus répandue du phosphore dans l'eau**. Le phosphate de calcium contenu dans les roches calcaires est peu soluble et n'est donc pas responsable de la pollution des eaux par le phosphore. Dans les cours d'eau, les sédiments peuvent stocker ou relarguer du phosphore en fonction de l'état physico-chimique des eaux. Nitrates et phosphates associés contribuent au développement excessif et anarchique des algues connu sous le terme d'eutrophisation.

³⁹ Vu l'origine essentiellement agricole de ces molécules, les APL ont été traduites en mesures et bonnes pratiques agricoles pour tenter de limiter l'usage des engrais (exprimés en tonnes à l'Ha), afin d'éviter un trop grand enrichissement vers les nappes. Ces mesures sont plus sévères dans les Zones Vulnérables désignées à l'échelle de la Région wallonne.

⁴⁰ Le cas des estuaires et des côtes normandes (France) est particulièrement bien documenté et préoccupant, avec la prolifération d'algues vertes aux conséquences multiples, liés aux excès de nitrates dans les eaux (Daniel et Le Goff, 2004).

⁴¹ A La CWEPS, nous utilisons un appareil de la marque Hach (Lange DR 1900) depuis 3 ans maintenant avec une totale satisfaction. Le mode d'emploi se trouve ici : <https://www.manualslib.com/manual/1216362/Hach-Dr-1900.html>.

⁴² L'étude Epukarst (en cours jusqu'en juin 2023) a démontré des différences notoires en termes de concentration en NO₃⁻ entre deux gours relativement proches dans une même cavité. Cela s'explique par une combinaison de l'activité directement en surface et de la transmissivité verticale des bancs calcaires séparant la surface du plafond de la grotte.

Du point de vue des eaux souterraines et des cavités, tant en ce qui concerne l'origine que l'effet environnemental, une forte concentration en phosphate s'apparente et s'accompagne assez généralement de la présence de pics en nitrates.

Dans une logique de coût/bénéfice, nous suggérons d'analyser uniquement les nitrates (voir point précédent) pour estimer l'impact des pratiques agricoles sur l'environnement souterrain. Dans la phase test (pour les 5 grottes de référence), on pourrait envisager de doubler les analyses (nitrates et phosphates), afin de confirmer le bon degré de corrélation entre les concentrations de ces deux substances dans les eaux des grottes. Si la corrélation entre les deux se confirme, nous proposerons **d'abandonner l'analyse des phosphates pour le protocole d'évaluation de l'état de conservation de l'habitat 8310.**

3.3 Micropolluants & Bactériologie

3.3.1 les métaux lourds

Les éléments métalliques et leurs dérivés organiques sont potentiellement toxiques, non-biodégradables et bioaccumulables dans les chaînes alimentaires. Ils sont principalement d'origine industrielle (dont les rejets atmosphériques provenant des incinérateurs de déchets). Certains métaux peuvent également provenir de certains sols (processus d'érosion selon la nature de la roche). Les "métaux lourds" sont définis comme les éléments métalliques dont la masse atomique est supérieure à celle du fer.

Comme pour bon nombre de produits ayant une incidence sur la santé et l'environnement, il existe des seuils définis pour l'eau potable, les épandages agricoles, les rejets d'usines et dans le réseau d'égouttage. Les principaux métaux lourds et métalloïdes que l'on peut retrouver dans les eaux sont (classés par toxicité décroissante) le mercure (Hg), le plomb (Pb), le cadmium (Cd), l'arsenic (As), le chrome (Cr), le cuivre (Cu), l'aluminium (Al), le zinc (Zn), ... La concentration de ces différents métaux est analysée dans les eaux potabilisables en Europe. Leur impact sur la biodiversité des eaux souterraines reste peu documenté. Selon certains auteurs (Manenti et al., 2021), ils peuvent complètement déstabiliser l'écosystème aquatique souterrain

et contribuer au remplacement des stygobies par des espèces épigées plus résistantes.

Ces analyses sont intéressantes mais elles sont coûteuses et difficiles à réaliser. On manque actuellement d'études toxicologiques concernant l'effet de ces métaux lourds sur la faune stygobie (Fakher et al., 1998 ; Gustavson et al., 2000).

La technicité et la spécificité de ce genre d'analyse ne permettent **pas de les inclure dans le protocole d'évaluation de l'état de conservation de l'habitat 8310.**

3.3.2 les pesticides

Les pesticides que l'on retrouve dans les eaux de surface ou souterraines sont à 90% d'origine agricole. Ce sont des produits toxiques qui se dégradent plus ou moins bien dans l'environnement. Ils appartiennent à trois classes selon leur "fonctions" : les herbicides (atrazine, glyphosate,...), insecticides, fongicides. 12 de ces substances actives sont fréquemment rencontrés dans les eaux souterraines, même si c'est généralement en faible concentration : Aldrine, Dieldrine, Endrine, Isodrine, Alachlore, Atrazine, Atrazine DE, Atrazine DP, Diuron, Isoproturon, Simazine, Terbutylazine. Les pesticides tendent à s'accumuler dans le sol, mais aussi dans les organismes. Ils se dégradent lentement sous la forme de métabolites qui peuvent être tout aussi toxiques que les molécules initiales et parfois beaucoup plus concentrés. Les valeurs seuils pour les pesticides sont fixées produit par produit. Étant donné que leurs effets peuvent se cumuler, c'est la charge globale en pesticides dont il faudrait tenir compte (Mösslacher, 2000).

Les études sur la toxicité des pesticides pour la faune invertébrée aquatique sont encore très rares. Les recherches en cours et les quelques publications à ce sujet indiquent que selon les groupes d'organismes étudiés, la vulnérabilité est très variable. Parfois les espèces souterraines s'avèrent plus résistantes que leurs homologues en surface. Une sensibilité forte aux pesticides est donc loin d'être une généralité pour les organismes souterrains et ne peut être considérée comme une caractéristique de cette faune particulière (Maazouzi et al., 2016).

Dans le contrôle des eaux potables, une quinzaine de pesticides sont analysés (parmi lesquels se trouvent des herbicides, fongicides et insecticides). Les normes à respecter sont basses (généralement 50 mg/l) et se justifient par le fait que certaines substances se fixent dans le corps humain⁴³. Le fait de fixer des normes par substance néglige l'effet cumulatif et les interactions entre plusieurs produits dans l'environnement et les organismes récepteurs. Enfin, bon nombre de ces pesticides se décomposent en métabolites qui peuvent être tout aussi toxiques mais dont on évalue rarement la présence.

Le haut niveau de technicité de ce genre d'analyse ne peut s'envisager que pour des objectifs de santé publique (telle la protection d'une ressource en eau potable). Il n'est pas possible **d'inclure ces analyses dans le protocole d'évaluation de l'état de conservation de l'habitat 8310**. Certaines recherches tentent actuellement d'évaluer le bon état toxicologique d'une eau sur base de la présence de communautés stygobies. Dans ce contexte, la biodiversité souterraine sert de bioindicateur quant à la qualité des eaux (Hose, 2005).

3.3.3 les micropolluants organiques et polluants « émergents »

Il existe un nombre croissant de molécules de synthèse qui sont rejetées dans l'environnement et dont les effets (surtout à long terme) restent encore mal connus ou inconnus :

- les produits organiques persistants (POP)
- les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP).
- les hydrocarbures chlorés
- les solvants
- les produits médicamenteux

Ces polluants émergents, qui sont liés à des rejets et des usages humains, font partie des substances sur lesquelles la SPGE (Société Publique de Gestion de l'eau) est aujourd'hui particulièrement mobilisée pour protéger la ressource en eau. Dans les eaux souterraines, leur présence en Wallonie peut s'avérer préoccupante⁴⁴ et mérite donc un certain suivi.

L'effet sur l'homme et sur l'environnement reste à étudier ; et on ne dispose pas de données sur les conséquences de ces substances sur la faune stygobie. Il y a par ailleurs peu de chances que des études toxicologiques (pour les crustacés par exemple) ne ciblent ces produits dans un avenir proche.

Ce genre d'analyses spécifiques est seulement en cours de développement actuellement. Les impacts sur la santé et sur l'environnement de ces polluants émergents restent en grande partie à démontrer et à quantifier. Peu de normes ont été fixées jusqu'à présent.

Ce type d'approche va bien au-delà des objectifs et des moyens envisagés pour le protocole d'évaluation de l'état de conservation des habitats 8310.

3.3.4 les paramètres bactériologiques

Les cultures en laboratoire, sur boîte de Pétri, permettent de compter les colonies de bactéries de différents types présentes dans les eaux. Seules une petite partie de celles-ci sont pathogènes. Les *Escherichia coli* (*E. coli*) et les Entérocoques⁴⁵ sont recherchés dans les analyses pour les eaux potables car elles témoignent d'une contamination fécale (déjections animales ou humaines) via les déversements d'eaux usées ou d'épandages. Les Entérocoques sont pathogènes et l'eau potable du robinet doit être exempte de ces bactéries.

Les bactéries, par leur nombre et leur vitesse de multiplication, représenteraient plus de la moitié de la biomasse terrestre. Près de 40 % d'entre elles vivraient dans les eaux souterraines (Bryner, 2014). La croissance de ces organismes, leur respiration et leur multiplication influencent les processus biogéochimiques qui se déroulent sous terre. Les travaux coordonnés par l'Université technique de Vienne (Dr. Inès Wihartitz) montrent que les eaux karstiques renferment des procaryotes planctoniques, mais que plus de 90 % sont en état de dormance (aucune activité métabolique).

Leur activité se concentre dans les biofilms d'une épaisseur inférieure au millimètre au contact d'un substrat solide.

⁴³ Elles ne sont pas évacuées par l'organisme et tendent à s'accumuler notamment dans certains organes du corps humain.

⁴⁴ <http://etat.environnement.wallonie.be/contents/indicator sheets/EAU%20Focus%201.html>

⁴⁵ Organismes unicellulaires se développant dans l'intestin d'animaux à sang chaud.

« La production bactérienne et, probablement, de nombreuses autres réactions métaboliques, y sont un million de fois plus intenses que dans la colonne d'eau ».

Plus encore dans les eaux souterraines que dans les autres écosystèmes, les bactéries jouent un rôle fondamental. De leur présence dépend le développement de bon nombre de communautés troglobies. Dans ces réseaux sans lumière et donc sans producteurs primaires, les apports nutritifs en provenance de la surface sont limités et les bactéries autotrophes constituent souvent la base de la pyramide alimentaire. Des études sont en cours sur la symbiose entre certaines familles de bactéries et d'invertébrés, dont certains crustacés souterrains (Chauveau, 2021).

Pour les invertébrés souterrains, les bactéries ne sont en principe pas une menace mais plutôt une source d'alimentation. Il existe d'autres pathogènes, telles que les moisissures et d'autres champignons, qui peuvent avoir de lourdes incidences sur la faune des grottes. Le syndrome du nez blanc (un champignon qui s'attaque aux chauves-souris en hibernation) est bien documenté à ce sujet. Son extension a imposé des mesures sanitaires strictes aux spéléologues en particulier aux USA où ce syndrome a fait des ravages (Frick, 2016). Un phénomène similaire (sans avoir la même répercussion écologique) a été observé dans les cavités wallonnes : des diptères se faisaient "dévorer" par des filaments de champignons au niveau des articulations (Dethier & Briffoz, 2008).

Pour le protocole d'évaluation de l'état de conservation de l'habitat 8310, les analyses bactériologiques dans l'eau des grottes ne sont pas compatibles avec un protocole applicable pour évaluer le bon état écologique. Il serait cependant intéressant, dans les 5 cavités tests, de relever les ressources alimentaires figurant dans la cavité, et parmi elles les films bactériens qui sont parfois bien visibles soit dans l'eau soit (plus probablement) sur les parois et/ou concrétions humides. Ceux-ci peuvent représenter un apport en nourriture important.

3.4 Paramètres prioritaires à suivre dans les eaux souterraines

L'humidité très stable et proche de la saturation est une caractéristique des cavités de Wallonie. Elle est pour partie liée à la présence d'eau dans ces grottes qui assurent un échange avec l'atmosphère du site souterrain. L'eau en grotte forme également un patchwork de sous-habitats **spécifiques**. Il s'agira de délimiter ceux-ci dans les cavités étudiées et d'y échantillonner la faune si on souhaite connaître la biodiversité présente.

L'eau présente dans une cavité provient (directement ou indirectement) de la surface et elle est un vecteur pour le transport de nutriments, pour l'introduction de certains organismes exogènes, mais aussi pour le transfert de sédiments ou de polluants depuis la surface. Disposer d'indications sur le temps de transfert⁴⁶ (surface → grotte → Nappe) permet d'estimer la vulnérabilité des sites et la nécessité d'imposer des mesures de protection et de conservation en surface, pour protéger les eaux souterraines⁴⁷, mais aussi la faune et la biodiversité qu'elles contiennent.

Pour les variables physico-chimiques et bactériologiques des eaux en grottes, cette note envisage un certain nombre de paramètres qu'il est possible d'analyser. Au-delà de la présentation sommaire de ces variables, de leur incidence sur la faune souterraine et/ou de leur rôle possible d'indicateur du bon état de l'environnement, nous avons évalué la nécessité de les intégrer dans le protocole d'évaluation de l'état de conservation de l'habitat 8310. Au final, pour l'évaluation de l'état des cavités, dans la "phase liquide", nous retenons 3 principaux paramètres d'analyse :

- **la température**
- **la conductivité**
- **la concentration en nitrates**

Pour chacune de ces variables, le pavé en rose explique pourquoi et comment il y aurait lieu de réaliser ces analyses pour le protocole 8310.

Nous suggérons par ailleurs en guise d'essai, sur les 5 cavités test, de :

⁴⁶ En l'absence de traçages pour mesurer cette vitesse d'infiltration depuis la surface, des variables simples à mesurer telles que la température ou la conductivité permettent d'avoir une première indication sur le temps de transfert et de séjour de l'eau sous terre... et donc indirectement de sa vulnérabilité.

⁴⁷ On rencontre ici la logique et l'objet des zones de protection de captage et des mesures prises en faveur de la ressource "eau potable" autour des prises d'eau pour la distribution publique.

- mesurer la **concentration en oxygène dissous** présent dans les eaux,
- relever la présence, lorsqu'elles sont visibles, de **colonies de bactéries** et/ou d'algues filamenteuses dans les cavités. Cette matière organique se développe dans les eaux mais également sur les parois et concrétions. L'étude de leur incidence sur la cavité et son interaction possible avec les invertébrés cavernicoles en est encore à ses débuts (Barriquand et al., 2021).

De telles observations, réalisées sur les 5 cavités tests, devraient permettre de vérifier si le suivi de ces paramètres se justifie ou non pour le suivi du bon état des cavités à l'échelle de la Wallonie.

4 PARAMÈTRES À ANALYSER DANS L'AIR EN GROTTES (PHASE GAZEUSE)

4.1 Introduction

La composition de l'air dans les cavités souterraines est variable. Différents gaz peuvent être présents, voire atteindre, dans certaines circonstances (milieu confiné), des concentrations élevées et poser des problèmes pour la respiration des visiteurs. La concentration en certaines substances gazeuses dans l'atmosphère, dans une salle ou une galerie, peut être très variable dans l'espace et au cours du temps. Une hausse ponctuelle peut résulter d'une pollution, d'une activité en surface ou du processus de décomposition biologique qui se produit dans le sol, voire d'une activité du type extraction (carrière) qui peut affecter la qualité de l'air sous terre. La roche elle-même peut engendrer une hausse de certains gaz tels que le radon (Cigna, 2005). Enfin, des mesures réalisées dans les grottes touristiques (sous monitoring) montrent que la fréquentation intensive des visiteurs pouvait avoir un effet tant sur la température que sur les concentrations en CO₂ liées à la respiration des visiteurs (Constantin, 2021).

Depuis une quinzaine d'années, les témoignages de spéléologues incommodés lors de visites sous terre par des problèmes respiratoires sont nettement à la hausse, à tel point que dans certains départements du sud

de la France (Ariège, Lot...), les descentes se font avec des détecteurs de gaz pour vérifier la teneur en oxygène. Une situation similaire était connue de longue date en Australie où la surveillance de la qualité de l'air fait partie des pratiques courantes chez les spéléologues (Smith, 1999). En Wallonie aussi, on constate une hausse spectaculaire du CO₂ dans l'atmosphère des cavités, pouvant très localement, dans des cas extrêmes, dépasser 4%, au détriment de l'oxygène (Ek, 2020).

Les concentrations observées et l'impact potentiel de ces gaz varient grandement selon leur nature et la ventilation du site. Cette ventilation dépend des différences thermiques entre l'extérieur et l'intérieur de la cavité, mais aussi de la morphologie de la cavité. La présence de certaines "poches de gaz" peut donc servir d'indicateur quant aux échanges d'airs qui se produisent sous terre et indiquer des zones plus stables. Certains conduits souterrains présentent un "souffle" d'air très chargé en CO₂ en provenance d'une zone de l'épikarst particulièrement active du point de vue biologique (décomposition et respiration du sol). Ces pics de CO₂ témoignent d'une zone d'échange sol/cavité, ce qui peut avoir son importance pour la faune des grottes (chaîne trophique et points d'accès pour la microfaune).

Après la présentation de chaque gaz, un encadré mentionne si sa mesure est réalisable et/ou utile pour l'étude de l'atmosphère des grottes et s'il y a lieu de l'intégrer dans le protocole d'évaluation du bon état de conservation des cavités souterraines naturelles (marché 8310).

4.2 Composition de l'atmosphère et seuil pour certains gaz

Dans l'atmosphère, l'air que nous respirons est composé d'un cocktail de molécules gazeuses (Rohli & Vega, 2018) dont les proportions sont actuellement :

- 78,08 % de diazote (N₂)
- 20,95 % de dioxygène (O₂)
- moins de 1 % d'autres gaz dont :
 - les gaz rares, principalement de l'argon (Ar) : 0,93 %

- le dioxyde de carbone (CO₂) : 0,0399 % soit 399 ppm
- le méthane (CH₄) : 0,000172 % soit 1,72 ppm

Dans un **milieu confiné**, il arrive que l'air soit vicié, ce qui se traduit par la diminution de la concentration d'oxygène et la hausse d'autres gaz qui, à partir d'un certain pourcentage, peuvent devenir toxiques⁴⁸. Parmi les gaz "problématiques" en milieu confiné, on peut citer :

- le CO₂ dans des grottes,
- le H₂S dans les égouts,
- le CO lors de l'utilisation d'un moteur à explosion (combustion incomplète)
- le NOX lors de travaux aux explosifs + imbrulé des hydrocarbures.

Dans la législation, il existe des seuils pour certains composants volatils de l'air. Ces normes ont été définies pour protéger les travailleurs sur leur lieu de travail. En Belgique, c'est une compétence fédérale intégrée dans le Code du bien-être au travail (arrêté sur la qualité de l'air respiré par les travailleurs). Depuis 2012, ce Code remplace l'ancien Règlement général pour la protection du travail (RGPT).

Ces règles s'alignent sur la législation européenne (voir directive 2008/50/CE concernant la qualité de l'air ambiant et un air pur pour l'Europe⁴⁹). Celle-ci ne se limite plus à imposer des normes sur les lieux de travail, mais s'applique au milieu ambiant en général, chaque pays ayant l'obligation de communiquer quotidiennement sur la qualité de l'air... Ces règles sont accompagnées de recommandations, en cas de pics de pollution⁵⁰, pour limiter les sorties et les efforts.

⁴⁸ Cette toxicité est définie par rapport à l'homme et aux problèmes de respiration qu'elle peut induire. Il faut également tenir compte de la durée d'exposition à ces concentrations seuils, car certains de ces gaz tendent à s'accumuler dans le corps (notamment sur l'hémoglobine) limitant le transport de l'O₂ dans le sang.

⁴⁹ <https://www.irceline.be/fr/documentation/legislationautour-des-prises-d'eau-pour-la-distribution-publique>.

⁵⁰ Pour la Belgique, c'est la cellule CELINE qui est chargée des mesures et de leur communication. La qualité de l'air prend en compte les concentrations en dioxyde d'Azote (NO₂-NO_x), en Ozone atmosphérique (O₃) et en particules fines (PM 2,5 soit les particules inférieures à 2,5 µm).

⁵¹ Le radon est un gaz radioactif produit par la désintégration de l'uranium naturellement présent dans certaines roches dans le sous-sol. Selon la nature géologique des terrains, le risque d'avoir une accumulation de radon (gaz lourd) dans des espaces non ventilés varie grandement.

⁵² L'incidence de ce gaz radioactif notamment sur le développement de certains cancers a été démontré par certaines études médicales.

Les grottes ont longtemps échappé aux seuils de gaz à respecter. Actuellement en Wallonie il n'existe pas d'obligation d'analyse de l'air dans les cavités touristiques. Le risque pour les touristes est négligeable vu la durée limitée des visites (1 à 2 heures passées sous terre). Les conséquences peuvent être plus sérieuses pour les professionnels du tourisme, dont les guides qui passent jusqu'à 8 heures/jour dans la cavité. Ce sont surtout les gaz à effet "cumulatif" qui sont à surveiller ; dont le radon⁵¹, pour lequel des expositions annuelles maximales ont été définies⁵² (AFCN, 2011). Dans certaines cavités mal ventilées, une exposition prolongée peut amener à dépasser ces taux d'exposition annuels.

En milieu confiné, il faut assurer une qualité de l'air, avec une concentration d'oxygène entre 19 et 21% et le respect des valeurs limites des substances dangereuses. Dans certains bâtiments (usines), pour respecter la qualité de l'air, il est parfois nécessaire d'appliquer des techniques de ventilation artificielle et d'accroître les échanges d'air.

La mise en place d'une ventilation dans des cavités (principalement touristiques) présentant des atmosphères confinées, un manque d'oxygène et/ou une trop forte concentration d'autres gaz a pu être envisagée. Ces projets furent abandonnés car ce type d'échange d'air (intérieur<=>extérieur) s'accompagne d'un assèchement et d'une forte perturbation du microclimat de la grotte. Les conséquences, notamment écologiques, sont trop lourdes pour mettre cela en place.

4.2.1 La concentration en O₂ – OXYGÈNE

L'oxygène est essentiel à la vie car nécessaire à la respiration. Sa concentration est de 20.95% à l'air libre. Les effets physiologiques suivants sont décrits pour l'homme en fonction de la teneur en oxygène (ou plutôt le déficit d'O₂) dans l'atmosphère respirée :

- 14-19% = fatigue, bâillements
- 10-14% = pouls rapide, malaises, vertiges
- 8-10% = nausées, évanouissement rapide
- moins de 8% = coma en moins de 40 secondes, arrêt respiratoire, mort.

Pour des conditions de travail correctes, la norme prévoit que la concentration d'oxygène doit se situer entre 19 et 21%, en sachant que ces valeurs doivent être ajustées avec l'altitude. En effet, ce qui compte, c'est la pression partielle d'oxygène et non sa concentration.

Dans le milieu souterrain, la concentration en oxygène dans l'air fluctue selon les équilibres qui s'établissent avec l'O₂ dissous dans les eaux (stagnantes et courantes), mais surtout avec les processus de précipitation, dissolution du calcaire qui peuvent respectivement consommer ou rejeter de l'oxygène. De même, la décomposition de quantités importantes de matière organique qui se seraient accumulées dans une cavité⁵³ consomme beaucoup d'oxygène. Si les gaz dégagés lors de cette oxydation sont plus lourds que l'atmosphère et qu'on est dans un milieu confiné et morphologiquement favorable, il peut se créer une poche d'air appauvrie en O₂.

Les organismes cavernicoles consomment de l'oxygène par respiration. Quelques études ont pu démontrer la présence de communautés stygobies dans des masses d'eaux souterraines hypoxiques⁵⁴ (Hervant & Malard, 2012), avec des adaptations physiologiques remarquables pour compenser ce manque d'O₂ dissous dans l'eau (Bishop, 2004). C'est beaucoup moins évident pour les espèces non aquatiques. Nous n'avons pas pu trouver d'études ou de données démontrant une différence significative dans le métabolisme respiratoire pour ces organismes terrestres.

Des détecteurs de gaz portable 4-en-1 ont été développés et sont aujourd'hui financièrement abordables sur le marché. Ces multimètres permettent une lecture immédiate de

la concentration jusqu'à 4 gaz courants. Mesurer la présence et les concentrations en O₂, CO₂, CO et H₂S, contribuerait à pouvoir caractériser l'atmosphère de ces cavités. Certains de ces détecteurs intègrent un signal d'alarme, si un des paramètres est hors des seuils de sécurité prédéfinis.

Pour le marché d'évaluation de l'état de conservation de l'habitat 8310, il nous semble intéressant de **réaliser ponctuellement quelques mesures** de concentrations de gaz (composition de l'atmosphère) dans les 5 grottes tests. Ces analyses, dont le degré de précision dépend grandement de la qualité de l'appareil d'acquisition et de son calibrage correct, peuvent contribuer à caractériser l'habitat et les sites étudiés. La constance de ces valeurs d'une cavité à l'autre et au cours du temps pourrait s'avérer intéressante.

Nous avons consulté l'Université de Liège (Professeur Camille Ek qui étudie l'atmosphère des grottes depuis le début des années 1960) pour demander un conseil sur le matériel à utiliser. Il travaille depuis des années et en totale satisfaction avec un appareil de la marque Dräger⁵⁵ qui peut analyser simultanément jusqu'à 5 gaz différents. Il existe aujourd'hui chez ce même fournisseur du matériel plus compact qui serait peut-être plus facile à utiliser.

4.2.2 Le CO₂ – DIOXYDE DE CARBONE

Le CO₂ est présent naturellement dans l'air ambiant avec des concentrations variant de 300 à 600 ppm. Bien qu'il représente donc moins de 0,05% des molécules de l'air, sa concentration est passée de 275 ppm depuis le début de la révolution industrielle à 417 ppm aujourd'hui⁵⁶. Cette hausse est à l'origine (via l'effet de serre) du réchauffement climatique qui s'emballe depuis une trentaine d'années. Le CO₂ est principalement produit par la décomposition de la matière organique (Ravn, 2020), par la respiration et par la combustion notamment d'énergies fossiles. La hausse récente du CO₂ est également

⁵³ Après une crue par exemple, certaines galeries peuvent être en partie bouchées par des alluvions, mais aussi des végétaux et des déchets organiques apportés par les eaux. Ce bouchon tend à limiter les échanges d'air et sa décomposition peut localement réduire temporairement les concentrations en O₂ dans une telle atmosphère confinée.

⁵⁴ Un milieu aquatique est dit en hypoxie quand la teneur en oxygène chute et ne permet pas la survie de certains organismes qui s'y trouvent. On constate chez certains stygobies des adaptations à cette chute de l'oxygène dissous disponible dans l'eau (Hervant & Malard, 2012)

⁵⁵ https://www.draeger.com/fr_be/Products/X-am-7000

⁵⁶ <https://www.notre-planete.info/indicateurs/CO2-dioxyde-carbone-concentration.php>

attribuable à certains procédés industriels, à la déforestation et à l'agriculture intensive.

La densité relative de ce gaz par rapport à l'air est de 1.52; il s'accumule donc dans les creux, et les puits, où il peut former des poches de plus forte densité en l'absence de brassage d'air et de ventilation. Alors que dans l'atmosphère la concentration en CO_2 est actuellement estimée à 417 ppm⁵⁷, la teneur en dioxyde de carbone de l'air des grottes est généralement très supérieure. Ainsi, dans les grottes de Wallonie, elle varie entre 1 000 et 30 000 ppm, et parfois plus (Ek et al, 2020). Les mesures réalisées depuis 1960 (Ek & Godissart, 2017) dans une dizaine de "grottes témoins" montrent que les variations saisonnières sont très fortes. Les valeurs observées en été sont quatre à dix fois plus importantes que les données hivernales.

Les premières mesures de CO_2 ont été réalisées il y a un peu plus de 50 ans chez nous dans l'atmosphère des cavités. Depuis cette date, la teneur de l'air en dioxyde de carbone augmente, de manière continue tant dans les cavités qu'à l'air libre. Mais sous terre, la hausse est beaucoup plus forte qu'en surface (Ek & Godissart, 2009). Si certaines grottes sont plus nettement impactées par cette hausse⁵⁸ que d'autres, dans toutes celles qui furent étudiées, la concentration en CO_2 croît et, dans toutes, plus vite qu'à l'air libre (Ek & Godissart, 2014). L'emballement des concentrations de CO_2 dans l'air des grottes ne peut pas être attribué à la seule révolution industrielle, ni à une surfréquentation des cavités. Toutefois, la fréquentation du site peut parfois avoir un impact dans le cas de certaines cavités touristiques (Moroni, 2013).

Les analyses isotopiques⁵⁹ réalisées montrent une parfaite concordance entre le CO_2 présent dans le sol et celui des grottes. C'est donc l'activité biologique se produisant au-dessus de la cavité (et en partie dans l'épikarst) qui serait responsable de ces "bouffées de CO_2 " (Breecker et al, 2012). Ceci concorde avec la saisonnalité des pics de CO_2 durant l'été, période où l'activité de décomposition et la respiration dans le sol est maximale. Le régime des précipitations pourrait également avoir une incidence:

lors d'orages (surtout après une longue période sèche et chaude), une poussée (effet piston) du CO_2 contenu dans le sol s'opérerait vers la grotte sous-jacente (Cao, 2021).

Du point de vue physiologique, il n'existe que de très rares études qui ont comparé la distribution de certaines espèces cavernicoles en regard des concentrations en CO_2 dans l'air des grottes. Ce genre d'analyse est d'autant plus difficile et aléatoire que les concentrations en CO_2 observées dans les cavités peuvent varier d'un facteur 10 au cours de l'année !

C'est ainsi que François Delhez, dans les années 1960, a étudié la répartition des 4 espèces d'araignées considérées à l'époque comme troglobies dans une vingtaine de grottes wallonnes. Ses observations montrent que la distribution de ces espèces est corrélée au taux de CO_2 observé dans les stations d'araignées (Delhez, 1971). Dans cette étude, la variable CO_2 présente des fluctuations bien marquées (entre grottes et au sein d'une même cavité selon l'endroit échantillonné), alors que d'autres variables physiques comme la température ou l'humidité sont, elles, parfaitement uniformes et stables...

De manière générale, les organismes troglobies sont tolérants à un niveau élevé de CO_2 et à des taux d'oxygènes plus faibles. L'incidence majeure du changement climatique sur la biodiversité à l'échelle du monde (tous habitats confondus) et les valeurs exceptionnellement hautes de concentration de CO_2 que l'on peut enregistrer dans les grottes, justifient que ce **paramètre soit analysé dans l'évaluation de l'état de conservation de l'habitat 8310**. Ces mesures peuvent se faire à l'aide d'un détecteur de gaz portable. Nous suggérons de les combiner avec l'analyse de l' O_2 et du CO_2 pour pouvoir caractériser l'état de l'air des grottes dans sa globalité. Ces mesures permettent aussi de déterminer l'hétérogénéité de la ventilation et des échanges d'air dans une grotte (Kukuljan et al., 2021). La période à laquelle la mesure est réalisée est importante, car les concentrations peuvent varier d'un facteur 10 en fonction des saisons. Pour mesurer les maxima en CO_2 , l'été (juillet à septembre) est à privilégier.

⁵⁷ On estime généralement qu'elle a augmenté de 25% depuis les années 1950.

⁵⁸ On pense en particulier à la Grotte de Comblain ou à la Grotte de Ramioul où au moins d'août des valeurs atteignant 80.000 ppm ont pu être enregistrées !

⁵⁹ Mesure des isotopes stables du carbone et de l'oxygène, rentrant dans la composition du CO_2 .

4.2.3 H₂S – Hydrogène sulfuré

L'H₂S est très toxique. Il se fixe sur l'hémoglobine à la place de l'oxygène. Il a une odeur typique d'œuf pourri, décelable à partir de 0.00047 ppm. Ce gaz se retrouve plutôt dans des réseaux d'égouts que dans des galeries naturelles. Cela étant, en cas d'une forte pollution (par ex. avec de l'eau usée), il serait possible d'en rencontrer dans une grotte au-dessus d'un cours d'eau souterrain particulièrement affecté.

Dans les grottes, c'est surtout en milieu volcanique (tube de laves par exemple) qu'on est enclin à rencontrer ce gaz de façon "naturelle"⁶⁰. Ce type d'habitat étant totalement absent en Wallonie, ce cas de figure peut être éliminé. Dans des conditions bien particulières (impliquant des bactéries, un milieu anaérobie et la présence de H₂) et selon un facteur temps assez long, la pyrite (FeS₂) peut se décomposer en H₂S + FeS₂⁶¹. C'est potentiellement le cas dans certaines mines de fer riches en pyrite et comme ce minerai se rencontre aussi en petite quantité dans les cavités (précipitation) la production de H₂S reste possible. Pour que ce gaz puisse s'accumuler en grotte, il faudrait aussi qu'il soit piégé dans une salle dont la morphologie soit favorable et qu'il ne puisse pas s'en échapper. L'ensemble de ces conditions rendent la formation de H₂S à partir de pyrite, dans le milieu souterrain naturel très improbable.

Si le H₂S est toxique pour l'homme, il n'existe aucune étude sur son impact sur la faune invertébrée. Pour le **protocole d'évaluation de l'état de conservation de l'habitat 8310**, nous ne retenons pas l'analyse de ce gaz. Aucune étude ou observation réalisée dans les cavités wallonnes ne mentionne une présence de H₂S. Son odeur très caractéristique est facile à identifier et il suffirait aux opérateurs du protocole d'évaluation de noter celle-ci, sans devoir faire l'objet d'une mesure et d'une analyse.

Vu sa toxicité, en cas de présence de H₂S, la prudence est de mise. Il peut être considéré

comme un indice d'une pollution concentrée d'eaux usées (rejet d'égout directement dans le karst).

4.2.4 CO – Monoxyde de carbone

Le CO est un gaz inodore, incolore et sans saveur (indécelable par les sens). Sa densité relative à l'air est de 0.97. Il est produit lors d'une mauvaise combustion⁶² ou une explosion (en particulier par les moteurs à explosion). Il est toxique par inhalation, principalement car il se fixe sur l'hémoglobine (carboxyhémoglobine COHb). On dénombre chaque année des intoxications liées à des chauffages au gaz mal réglés qui produisent du CO dans des espaces confinés et mal ventilés (APW, 2015).

Comme pour la plupart des gaz, son accumulation en grotte ne peut se faire que dans des cavités très confinées et sans échange d'air où il va pouvoir être stocké (augmentation de sa concentration). La présence de CO en grotte en Wallonie est très mal documentée. Quelques spéléologues y ont été confrontés, notamment suite à des tirs effectués lors de travaux de désobstruction⁶³. Une synthèse des effets et des volumes de gaz dégagés selon le type d'explosif utilisé a été réalisée à l'usage des spéléologues par un bureau de recherche suisse (Demièrre, 2006).

En Belgique, pour le monoxyde de carbone, seule la grotte de Ramioul (et en particulier son étage inférieur) fait l'objet de quelques mesures. Dans ce conduit, les concentrations en CO₂ et en CO sont telles que l'accès y est interdit et qu'une sorte de "couvercle" a été placé sur le puits d'accès au réseau inférieur pour contenir les émanations de gaz qui se répandent dans le reste de la cavité. L'origine du CO à Ramioul reste indéterminée ou en tous les cas controversée. La cavité est bordée par la vaste carrière du Lion (Carmeuse). Pour certains, ce sont les tirs de mine qui sont directement responsables de ces bouffées de CO⁶⁴. L'aspect confiné du réseau inférieur (absence d'échange d'air, renforcé par la fermeture du puits d'accès)

⁶⁰ C'est à dire non lié à une pollution anthropique ou à un rejet industriel

⁶¹ <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0016703796003213>

⁶² Une combustion incomplète est liée à un manque d'oxygène, la forme oxydée normale étant le CO₂.

⁶³ Dans des cavités mal ventilées et en cours de désobstruction, l'usage par les spéléologues de petites charges explosives (percuteur + poudre noire) peut très temporairement et localement produire du CO. Pour la santé des explorateurs, il est recommandé par la plupart des fédérations spéléologiques, après un "tir", de laisser pendant un certain temps (pouvant dépasser plusieurs heures selon la ventilation et la charge utilisée respirer la cavité avant de poursuivre l'exploration (voir <http://mdemièrre.speleologie.ch/?p=138>).

⁶⁴ Cette hypothèse est contestée par l'exploitant/carrier, par ailleurs propriétaire du site incluant la grotte de Ramioul.

contribue à l'accumulation des gaz dans celui-ci, que ce soit du CO, du CO₂ et même du Radon. L'interdiction d'accès à ce conduit inférieur depuis plus de 15 ans maintenant rend tout suivi particulièrement compliqué⁶⁵.

Nous suggérons que la mesure du CO soit intégrée dans nos analyses lors des relevés réalisés dans les 5 cavités tests pour le **protocole d'évaluation de l'état de conservation de l'habitat 8310**. C'est un gaz dangereux pour l'homme et qui pourrait aussi avoir des effets sur la faune. La présence de ce gaz qui ne se forme pas naturellement en grotte est dès lors un indicateur d'une combustion incomplète et/ou d'une explosion (type tir de carrière) qui peut avoir une incidence lourde sur l'habitat souterrain. Au contact d'une concentration en oxygène suffisante, le CO va s'oxyder et se transformer en CO₂. Il se limitera donc de toute manière aux seules zones confinées et mal oxygénées.

Une des sondes du multimètre analysant les concentrations en gaz peut être consacrée à la mesure du CO. Le choix du matériel doit être adapté (robustesse) à son usage en grotte et disposer d'une résolution suffisamment précise vu les concentrations probablement très faibles rencontrées en grotte.

4.2.5 le radon (gaz lourd et radioactif)

Le radon est un gaz radioactif inerte dont la demi-vie est de 3,8 jours. Il se forme par une série de désintégrations successives à partir de l'uranium 238, naturellement présent dans certaines roches (Margineanu, 2020). La radioactivité est caractérisée par la réorganisation spontanée du noyau d'un atome dit instable. En se réorganisant pour tendre vers un état plus stable, le noyau perd des nucléons (protons, neutrons) ce qui induit le changement de sa nature chimique par processus de « désintégration radioactive », qui s'accompagne de rayonnements alpha, bêta et gamma. Le nombre de désintégrations par seconde s'exprime en Becquerels (Bq). Un gramme d'uranium 238 a une radioactivité

de 12.400 Bq, c'est-à-dire que 12.400 noyaux d'uranium se désintègrent chaque seconde. Pour le radon, l'activité dépend de sa concentration dans l'air. À titre d'exemple, l'air intérieur d'une nouvelle habitation doit avoir une activité inférieure à 100 Bq/m³ - norme fixée par l'Union Européenne (AFCN, 2011). Vu que la présence initiale d'uranium (produit mère du radon) varie fortement avec la nature de la roche, celle du radon est également intimement liée au contexte géologique.

En Wallonie, c'est surtout le socle de l'Ardenne (quartzophyllades) qui est concerné. Dans cette zone du pays ne présentant pas de phénomènes karstiques, des contrôles sont recommandés dans les caves des bâtiments si elles sont mal ventilées. Il n'existe donc aucune obligation pour le vendeur ou le bailleur de contrôle des risques d'exposition au radon pour les bâtiments d'habitation. Pour autant, afin de rassurer l'acquéreur ou le locataire, il est possible d'effectuer soi-même des vérifications en se procurant un dosimètre dans le commerce. Cette "boîte" est un accumulateur passif. Laisse pendant 2 à 6 mois dans la pièce à contrôler, il est ensuite analysé pour déterminer le degré d'exposition auquel la pièce et les éventuels habitants ont été exposés.

Dans de nombreuses grottes (et ceci sur différents continents), des concentrations élevées de radon (222Rn) d'origine naturelle ont pu être mesurées (Cigna, 2005). La quantité de ce gaz radioactif peut varier considérablement suivant un schéma saisonnier⁶⁶ et même selon l'alternance jour/nuit (Waring, 2021). Ces variations sont déterminées par la ventilation convective bidirectionnelle⁶⁷, qui répond au contraste entre la température extérieure et la température de la grotte. Les spéléologues, mais surtout les travailleurs des grottes (guides), exposés à des concentrations de 222Rn pendant de longues durées (effets cumulatifs) présentent un risque accru de contracter un cancer du poumon (Anderson, 2021).

⁶⁵ La grotte de Ramioul disposant du statut de Cavité Souterraine d'Intérêt Scientifique - CSIS, des réunions sont périodiquement organisées par les Chercheurs de la Wallonie en présence du DNF et de Carmeuse. Plusieurs projets de monitoring (avec mesure in situ notamment dans le réseau inférieur) sont à l'étude pour pouvoir suivre l'évolution de la concentration des gaz dans ce réseau, mais ils n'ont pas encore pu être mis en place.

⁶⁶ Les valeurs maximales sont atteintes en été, alors qu'en hiver, l'apport plus important d'air extérieur (froid) permet la dilution du Radon.

⁶⁷ A savoir l'échange de masses d'air et de flux entre l'extérieur et l'intérieur de la cavité dépendant notamment d'une différence de densité (pression) liée à la température.

Un monitoring, utilisant ces accumulateurs passifs⁶⁸, a été mis en place à la Grotte du Noû Bleû (Sprimont) en février 2021. Cette grotte-laboratoire est devenue un des points de contrôle pour le réseau de suivi de la radioactivité mis en place par l'Agence Fédérale du Contrôle Nucléaire (Roba, 2021). Les données partielles enregistrées jusqu'à présent dans la cavité montrent des variations de concentrations saisonnières bien marquées et qui sont corrélées avec celles du CO₂.

Les concentrations significatives de radon mesurées en grotte dépendent tout à la fois de la présence naturelle d'uranium 238 dans la roche dans laquelle la grotte s'est formée (et/ou dans une formation géologique située au contact de cette cavité⁶⁹) et de l'aspect confiné du lieu. Les concentrations maximales s'enregistrent dans les espaces sans mouvement d'air et en été, période où la ventilation est la plus faible en grotte. C'est également dans ces conditions qu'on observe les maxima de CO₂ par effet d'accumulation de gaz en l'absence de ventilation.

La mesure du radon se fait à l'aide de capteurs passifs (dosimètres) qui sont placés dans la cavité en différents endroits et relevés 2 à 4 mois plus tard. Il faut ensuite les envoyer vers un laboratoire spécialisé afin de révéler le taux d'exposition / accumulation enregistré par les capteurs. Pour le **protocole d'évaluation de l'état de conservation de l'habitat 8310**, cela imposerait des visites régulières en grotte, car la saisonnalité des pics de radon ne permet pas de se contenter d'une mesure au hasard sur l'année. Nous estimons que ce n'est **pas indispensable** pour les cavités naturelles dans le calcaire⁷⁰. La corrélation avec les pics de CO₂ nous indiquent également le rôle primordial de la ventilation qui devrait pouvoir être déterminé par les capteurs CO₂; l'étude du radon en plus n'apporterait pas d'informations fondamentalement nouvelles quant à l'état de l'environnement souterrain.

4.3 paramètres prioritaires à suivre dans l'atmosphère des grottes

Dans les grottes, les échanges (physiques et chimiques) entre les phases solides, liquides et gazeuses sont continus. Le processus même de karstification (dissolution / précipitation) des calcaires est lié aux équilibres chimiques entre ces différentes phases. Leur incidence sur la biodiversité souterraine est complexe et encore très incomplètement connue, mais là aussi des interactions existent, que ce soit avec les bactéries et/ou la microfaune du sol. Il est donc indispensable pour le monitoring de cet environnement si particulier de pouvoir suivre l'évolution des concentrations des différents ions et molécules.

La composition de l'atmosphère des cavités (et la concentration en certains gaz) dépend des échanges avec la surface. L'activité biologique dans le sol joue également un rôle prépondérant, notamment dans les pics de CO₂ qu'on rencontre en grotte et qui sont d'une amplitude sans commune mesure avec les variations (et la hausse) du CO₂ observé dans l'air extérieur.

Selon la morphologie de la cavité et les différences de températures entre l'intérieur de la grotte et le monde extérieur, des échanges d'air vont pouvoir s'effectuer. L'aspect ventilé ou confiné d'une grotte (ou d'une partie de grotte) semble jouer un rôle déterminant dans les concentrations locales observées de **plusieurs gaz à suivre (O₂, CO₂, CO et éventuellement H₂S)**. Ainsi dans une même grotte, on peut voir le CO₂ multiplié par 10, voire même par 100, entre les zones les mieux aérées et les parties profondes de la cavité subissant une poussée de CO₂ depuis la couche de sol et l'épikarst. Un enregistrement de la concentration en gaz en un seul endroit dans une cavité n'a donc que peu de représentativité et de signification et il s'agira (comme pour la température) de multiplier les mesures. Ceci permettra de différencier dans la cavité des zones ventilées et confinées

⁶⁸ Il s'agit d'une sorte de boîte, dont on ouvre le couvercle, qui contient du charbon actif et qui permet d'enregistrer le rayonnement alpha présent dans la salle étudiée.

⁶⁹ C'est très certainement le cas à la grotte de Ramioul où les schistes houillers alunifères, situés au contact direct avec les calcaires viséens de la formation de Lives, sont notoirement très riches en uranium.

⁷⁰ Cette même évaluation, si elle devait être réalisée dans des ardoisières et/ou autres galeries artificielles dans des roches plus enrichies en uranium, mériterait probablement d'intégrer la mesure du radon dans son protocole.

(Sainz, 2020) et de confronter ces mesures à la distribution faunistique dans la grotte. Si on souhaite se focaliser sur les concentrations en gaz les plus élevées, il faudra privilégier les analyses en été. Le comparatif avec l'hiver est également intéressant pour apprécier la dynamique aérologique du site souterrain en question et voir si on peut le corrélérer avec la distribution de la biodiversité souterraine.

Mettre en place une ventilation dans des cavités trop confinées (manque d'oxygène et forte concentration de gaz "problématiques") a été envisagé, notamment dans certains réseaux touristiques. Ces projets furent abandonnés car une augmentation artificielle des échanges d'air (intérieur extérieur) s'accompagne d'un assèchement et d'une forte perturbation du microclimat de la grotte. Les conséquences, notamment écologiques, ont été considérées comme trop lourdes par les experts conseillant les gestionnaires touristiques (Hoyos, 1998).

Pour le protocole d'évaluation de l'état de conservation de l'habitat 8310, nous suggérons l'achat d'un détecteur de gaz multimètre pour enregistrer en une seule lecture la présence et les concentrations en O_2 , CO , CO_2 et H_2S . Les mesures dans les 5 cavités en phase test permettront de vérifier la validité des mesures effectuées, l'adaptation du matériel aux conditions souterraines et l'intérêt d'analyser ces quatre gaz. Par contre, nous abandonnons l'idée de mesurer le radon pour les raisons explicitées dans la partie consacrée à ce gaz particulier.



VARIABLES BIOTIQUES A SUIVRE POUR CARACTERISER LE BON ETAT DES HABITATS SOUTERRAINS

1 Introduction

L'évaluation de la biodiversité dans les habitats souterrains nécessite des techniques d'échantillonnage adaptées, notamment pour les invertébrés terrestres et aquatiques qui les peuplent. L'étude et l'inventaire de la faune des grottes sont essentiels pour la conservation. La première difficulté réside souvent dans l'accès à l'ensemble des micro-habitats. Dans ce contexte, les méthodes spécifiques de capture visent à minimiser les perturbations tout en récoltant des données pratiques pour la protection de ces écosystèmes particuliers. L'identification des individus collectés est confrontée également à des limites, quelle que soit la méthode choisie. Cet article présente de manière sommaire les méthodes de collecte et de l'étude de la faune des grottes, en mettant en avant des aspects pratiques destinés à faciliter leur mise en place mais aussi à ne pas impacter significativement les populations particulières vivant en milieu souterrain.

2 Aperçu de la vie souterraine¹

Pour le visiteur non averti, et parfois même pour le spéléologue chevronné, le monde souterrain offre un spectacle essentiellement minéral. La vie semble y être absente ou alors extrêmement discrète. Tout au plus, connaît-on les chauves-souris, que beaucoup considèrent encore, à tort, comme les habitants les plus typiques des grottes. Pourtant, ce monde sombre et discret abrite une vie variée et particulièrement originale, car ses représentants ont dû s'adapter à des conditions d'existence extrêmes (absence de lumière, froid, humidité, absence de

producteurs primaires tels que des végétaux, ce qui induit des ressources alimentaires très limitées ...). Le milieu souterrain constitue d'ailleurs un véritable laboratoire naturel pour qui veut étudier l'évolution. On y compte une proportion particulièrement élevée d'organismes endémiques, ou à très faible aire de répartition, ce qui rend les mesures de conservation et de protection très nécessaires pour ne pas perdre cette biodiversité.

L'étude de la vie souterraine fait l'objet de la biospéologie, terme créé par Racovitza au début du 20e siècle. Il faut savoir qu'il existe trois catégories écologiques de cavernicoles, celles-ci sont définies en fonction de l'étroitesse et de l'ancienneté des liens qui unissent les espèces au milieu souterrain.

Dès 1939, Leruth, un des précurseurs de la biospéologie en Belgique et même en Europe, listait 600 espèces animales observées au moins une fois dans des souterrains wallons, son investigation ayant porté sur une 40aine de cavités. Aujourd'hui, la liste des espèces potentiellement observables sous terre dépasse les 1000 ! 68 espèces sont considérées comme « pures troglobies ou stygobies » (NB : le préfixe "stygo" s'applique aux espèces aquatiques) en Belgique selon Dethier & Rochez, 2022.

2.1 Les troglaxènes / stygaxène

Il y a bien sûr des animaux qui n'ont rien à faire dans les grottes, soit qu'ils y sont tombés, soit qu'ils y ont été entraînés par la crue d'une rivière... On les qualifie d'**accidentels**, comme par exemple les crapauds, les grenouilles... Mais il y a aussi des espèces qui viennent passer une

¹ Ce chapitre reprend des larges extraits de l'article suivant : Rochez, G., Biospéologie – La vie sous terre... IN Les carnets des espaces naturels n°18, 2023, Ardenne & Gaume.

partie de leur existence dans le milieu souterrain. Ce sont les **trogloxènes** (littéralement : “étrangers aux grottes”), qui ne passent qu’une partie de leur vie dans le milieu souterrain (hiver, été, recherche de nourriture) et ne s’y reproduisent pas. Ils ne présentent donc aucune adaptation à ce type de milieu, tant morphologique que physiologique ou comportemental. Les chauves-souris, souvent considérées à tort comme de véritables “cavernicoles”, sont typiquement des troglloxènes.

Parmi les Invertébrés, nous pouvons citer comme exemples les papillons *Scoliopteryx libatrix* et *Triphosa dubitata*, diverses espèces de *Stenophylax* (Trichoptères de la famille des *Limnephilidae*), l’hyménoptère *Diphyus quadripunctorius*.

2.2 Les troglaphiles / stygophiles

Les **troglophiles** sont, littéralement, les « amis des grottes ». Ces espèces sont les hôtes sélectifs constants des milieux souterrains et sont capables d’y passer toute leur vie et de s’y reproduire. On peut cependant encore les trouver en dehors des cavités, mais dans des milieux similaires (sous les pierres, dans le sol, les arbres creux ...). S’ils ne présentent pas encore d’adaptations morphologiques évidentes à la vie souterraine, on constate néanmoins chez eux des modifications de leur métabolisme et de leur comportement. Par exemple, l’araignée *Meta menardi*, le petit escargot *Oxychilus cellarius* ou encore le diptère *Speolepta leptogaster* sont des espèces troglaphiles fréquemment rencontrées dans les grottes en Belgique.

2.3 Les troglobies / stygobies

Les **troglobies** constituent la catégorie d’animaux la plus intéressante et la plus caractéristique des grottes. Ce sont les vrais cavernicoles puisque, littéralement, ils vivent exclusivement dans le milieu souterrain. Ils présentent de profondes modifications, tant physiologiques que morphologiques cette fois. Ils sont incapables de survivre en dehors des grottes. Ils sont devenus en quelque sorte prisonniers de leur milieu, en particulier de ses parties profondes.

Parmi les Invertébrés, on estime que la faune belge compte à l’heure actuelle 68 espèces troglobies, appartenant à des groupes très divers : Vers, Mollusques, Collembolés, Acariens, Insectes, Crustacés... (voir liste en annexe 1 et arbre de classification taxonomique ci-dessous). En raison des glaciations, les grottes belges et celles encore plus nordiques, sont pauvres en espèces troglobies, cette faune ayant été éradiquée lorsque les sols étaient complètement gelés au moment du maximum glaciaire. La plupart de ces espèces sont donc des hôtes “récents”, c’est-à-dire qu’ils sont entrés sous terre il n’y a que relativement peu de temps (quelques milliers d’années quand même). Une autre source de biodiversité souterraine est l’hypothétique recolonisation de nos grottes depuis le milieu souterrain du sud de l’Europe, n’ayant pas été affecté de la même manière par les glaciations. Sur le pourtour de la méditerranée, en région calcaire, les troglobies sont beaucoup plus nombreux et certaines espèces ont pénétré dans les grottes depuis si longtemps qu’elles n’ont plus de parents proches parmi la faune de surface. C’est particulièrement le cas pour le sud de la France, l’Italie, l’Espagne et encore plus la Slovénie, considérée comme un des pays présentant la plus forte densité de troglobies au monde.

Quelques exemples de troglobies rencontrés dans nos cavités belges : les Crustacés Amphipodes du genre *Niphargus*, les Aselles (Isopodes aquatiques) telles que *Proasellus hermallensis* ou *P. cavaticus*, le coléoptère *Tychobythinus belgicus* (endémique de quelques grottes en région liégeoise), différentes espèces de Collembolés telles que *Gisinea delhezi*, *Pseudosinella vandeli*, *Oncopodura dethieri*.

Les troglobies sont inféodés à la vie souterraine, pour cela ces espèces ont dû développer au fil du temps des adaptations morphologiques mais aussi physiologiques et comportementales.

2.4 Biodiversité microbienne

En plus de la faune visible, les habitats souterrains abritent également une biodiversité microbienne importante. Ces bactéries jouent un rôle majeur comme base de la chaîne alimentaire en souterrain et constituent une ressource trophique importante pour le reste de la biodiversité dans les grottes. Les études visant à caractériser la diversité des micro-organismes, tels que les bactéries et les champignons, jouent un rôle crucial dans la compréhension de ces écosystèmes. Des études sur les bactéries contenues dans le moonmilch en Wallonie ont d'ailleurs apporté encore récemment un regard nouveau sur cette thématique (Michel et Rigali, 2023). Les techniques de séquençage de l'ADN peuvent également être utilisées pour explorer la diversité microbienne souterraine, difficile à identifier morphologiquement.

2.5 Sélection des groupes à échantillonner dans le contexte wallon

Pour établir l'état de conservation et la biodiversité d'une cavité, comme le mentionne Lankester (2021), il y a lieu d'établir une liste d'espèces typiques présentes dans la grotte. Cette liste doit comprendre des espèces relativement fréquentes dans l'habitat et facilement identifiables, ce choix se justifiant avec l'hypothèse qu'une espèce abondante et fréquente est plus nécessaire à la structure et au fonctionnement d'un écosystème qu'une espèce disséminée et peu fréquente (Bensettiti et al., 2006). Ensuite, pour choisir les espèces les plus à même de participer à l'évaluation de l'état de conservation, il faut connaître l'état de référence, celui pour lequel la structure et les fonctions de l'habitat sont bonnes. La principale difficulté pour le milieu souterrain (comme probablement pour les habitats de surface) consiste à définir cet état de référence. C'est pourquoi il a été proposé qu'au travers de l'étude des traits d'histoire de vie des espèces, on recherche un pool d'espèces qui, par sa présence, maximisera la potentialité de la richesse spécifique pour tous les groupes taxonomiques potentiellement présents et les capacités de résilience de l'habitat. L'objectif devrait être de maintenir le maximum d'espèces avec la plus grande diversité possible de groupes taxonomiques et d'écologies différentes pour

donner « toutes les chances » à l'habitat de fonctionner correctement, dans le présent et à l'avenir (Maciejewski, 2016).

Pour choisir les « espèces typiques » dans le cadre de l'évaluation de l'état de conservation de l'habitat pour le rapportage Natura 2000, les considérations suivantes devraient être prises en compte :

- elles doivent être des indicateurs du bon état de conservation de l'habitat, par exemple en indiquant la présence d'un large groupe d'espèces avec des conditions spécifiques de l'habitat (« espèces parapluie ») ;
- elles devraient être sensibles aux changements de l'habitat (« espèce sentinelle », « espèce de détection précoce ») ;
- la liste des « espèces typiques » devrait idéalement demeurer stable à moyen et à long terme ;
- elles doivent être relativement faciles à déterminer, pour qu'au delà de l'échantillonnage, leur identification avec les moyens et les connaissances dont disposent les opérateurs en charge de cette tâche puisse être reproductible.

L'application de ces principes aux grottes représente un réel défi ! Il semble, au stade actuel des connaissances de la faune souterraine, très complexe d'établir une liste d'espèces typiques. En effet, si actuellement près de 1000 espèces liées au monde souterrain sont possibles en Belgique, réaliser une sélection d'espèces typiques nécessiterait d'en connaître les distributions et biologies. L'évaluation de l'état de conservation de la faune souterraine nécessiterait enfin de pouvoir réaliser une comparaison avec un état de référence, ce dernier étant actuellement totalement lacunaire.

Nous proposons pour la Région wallonne d'utiliser deux indicateurs distincts pour la faune :

- l'un basé sur la faune cavernicole hors chiroptères, principalement basé sur un nombre de taxons observés au cours de la période évaluée
- l'autre basé sur les populations de chauves-souris, qui couple deux facteurs : le nombre d'espèces recensées et le nombre total d'individus

2.5.1 Discussion sur la pertinence de la prise en compte des chiroptères dans l'évaluation de l'état de conservation de l'habitat 8310

Les chauves-souris sont un groupe taxonomique qui bénéficie à l'heure actuelle d'un monitoring structuré et bien organisé à l'échelle de la Région wallonne, incluant entre autres un volet d'inventaires hivernaux dans un grand nombre de sites souterrains naturels et artificiels où les chiroptères se réfugient pour hiberner. Il est de ce fait très tentant de s'appuyer majoritairement (voire uniquement) sur ces mammifères pour l'évaluation de l'habitat 8310. Toutefois, il est bon de se rappeler que les chauves-souris sont classées dans les troglaxènes c'est-à-dire que leur degré de liaison (dépendance) au milieu souterrain est faible. Les chauves-souris utilisent les grottes principalement en hiver en Région wallonne car elles y trouvent des conditions micro-climatiques intéressantes pour l'hibernation, à savoir une température basse, hors gel et assez stable et un taux d'humidité élevé. En marge de ces conditions micro-climatiques, il semble assez clair que l'état de conservation de l'habitat en tant que tel ait une influence assez limitée sur l'utilisation (ou non) des grottes par les chauves-souris.

On dispose de plus de données récurrentes et régulières pour le suivi des populations de chauves souris, les mêmes cavités étant visitées chaque année depuis parfois plus de 30 ans pour effectuer les inventaires. Ceci permet de quantifier l'évolution des populations présentes. C'est loin d'être le cas pour les invertébrés cavernicoles, où on se limite dans bien des cas à un seul relevé n'englobant pas tous les taxons concernés.

À l'inverse, la présence de chauves-souris dans les grottes, surtout dans le cas d'effectifs importants ou d'une utilisation en tant que gîte de reproduction en été (de rares cas d'occupation estivale des grottes par les chauves-souris sont documentées en Belgique), a une influence non négligeable sur le milieu souterrain. Celle-ci se matérialise principalement par une augmentation possible du taux de CO₂ dans l'air (dont l'effet est variable selon la ventilation du

site) et l'apport (parfois massif) de guano, matière organique qui sert d'apport nutritif pour d'autres espèces cavernicoles.

La question de la prise en compte ou non des chauves-souris dans l'évaluation du milieu souterrain est de ce fait complexe. D'un côté, les chauves-souris, en tant qu'espèces des annexes de la Directive Habitats, bénéficient déjà de beaucoup d'attention et d'une évaluation de leur état de conservation à l'échelle spécifique. Cet argument est par exemple utilisé par la France pour ne pas considérer du tout les chiroptères dans l'évaluation de l'état de conservation de l'habitat 8310. D'un autre côté, les chauves-souris sont probablement le groupe taxonomique le plus facile à suivre en milieu souterrain. Les bases de données disponibles sont riches et présentent un suivi temporel sur une longue période. Il serait donc dommage de s'en affranchir complètement.

2.5.2 La faune cavernicole hors chiroptères

La faune cavernicole est caractérisée par une dominance d'invertébrés avec différents niveaux de "troglotaxonomie" (troglotaxonomie - troglotaxonomie - troglotaxonomie). Quels groupes taxonomiques faut-il étudier en priorité? La réponse la plus évidente est qu'il faut étudier les espèces troglotaxonomie et stygobies, c.-à-d. celles qui sont le plus intimement liées au milieu souterrain. Si on devait chercher des espèces "parapluies" en milieu souterrain, il serait logique de s'orienter vers ces espèces troglotaxonomie/stygobies. Par ailleurs, ces espèces hautement adaptées à la vie en grotte sont celles qui reflètent le mieux l'état de conservation du milieu, car leur survie dépend du maintien d'une série de caractéristiques bien spécifiques de l'habitat.

Si cette démarche paraît simple et évidente, un coup d'œil à la liste des espèces troglotaxonomie connues en Belgique (voir annexe 1) permet de se rendre compte que la très grande dispersion de ces espèces dans une multitude de groupes taxonomiques, par ailleurs souvent peu étudiés et/ou difficiles à identifier, rend la tâche particulièrement ardue. Des arbitrages devront vraisemblablement être faits pour focaliser l'attention sur certains groupes taxonomiques particuliers, en fonction

des personnes-ressources disponibles et des moyens d'identification envisagés. Il semble toutefois nécessaire de prendre en compte à la fois des espèces terrestres et des espèces aquatiques afin de couvrir la plus grande diversité possible de micro-habitats.

L'idée d'un "indice biotique" des grottes, tel qu'il existe pour les milieux d'eau douce par exemple, est très séduisante. Toutefois, aucune trace de ce type de concept n'a été trouvée dans la littérature. M. Dethier (2022, comm. pers.) nous a également expliqué avoir caressé cette idée tout au long de sa carrière de biospéologue sans jamais parvenir à développer un outil de ce type.

Une autre technique pourrait être de se résoudre à évaluer une certaine diversité faunistique sur base du nombre de taxons observés et identifiés à un échelon taxonomique le plus précis possible (espèce, famille ou ordre par exemple, selon les groupes). Cette méthode permet de faciliter le tri des récoltes et d'obtenir plus rapidement un nombre d'items taxonomiques. Toutefois, le caractère représentatif du milieu souterrain est, pour la plupart des groupes, très variable d'une espèce à l'autre au sein d'un même groupe taxonomique. Un effort conséquent d'identification, au moins dans certains groupes représentatifs tels que les collemboles, les araignées, les amphipodes, les gastéropodes serait pertinent.

Un autre groupe qui doit faire l'objet d'attention, comme c'est également le cas pour les habitats en surface, est les espèces exotiques envahissantes. Peu de choses sont connues à l'heure actuelle sur la présence de telles espèces en souterrain. On peut toutefois citer l'écrevisse de Louisiane (*Procambarus clarkii*), qui a déjà été détectée dans des milieux souterrains en Italie et au Portugal par exemple (Mazza, 2014). Ces espèces sont en effet de nature à déstabiliser rapidement des équilibres fragiles tels que ceux qui régissent le monde souterrain. Malheureusement, à ce stade, nous sommes contraints de recommander plus d'études à ce sujet au niveau du milieu souterrain.

3 Techniques d'échantillonnage de la faune invertébrée

Lorsque l'on compare les résultats de différentes méthodes d'échantillonnage de la faune cavernicole dans les grottes, on remarque qu'une recherche qui combine plusieurs techniques différentes est la plus efficace car chaque méthode donne des résultats complémentaires. De plus la multiplication des techniques de récoltes s'adapte également mieux à échantillonner une diversité de micro habitat présents sous terre, ce qui est favorable pour englober au mieux la biodiversité globale de la cavité (voir chap. 2 à ce sujet). Enfin certains groupes taxonomiques sont plus faciles à trouver avec certains types de recherche, d'autres avec d'autres types de piégeage (Wynne, 2018).

Plusieurs articles de littérature tels que Wynne et al. (2018), Hunt et Millar (2001), Dole-Olivier et al (2009) ou encore Bichuette et al. (2015) décrivent (et parfois comparent) les méthodes d'échantillonnage de la faune souterraine. L'article de Wynne et al. (2019) fait de la synthèse de 110 articles qui traitent d'étude de la faune souterraine terrestre partout dans le monde et analyse les techniques d'échantillonnage utilisées. Ces références peuvent compléter très utilement les éléments méthodologiques décrits ci-dessous.

Quelle que soit la méthode, le milieu souterrain a pour caractéristique qu'il est très difficile d'atteindre l'asymptote de la courbe 'effort d'échantillonnage' versus 'nombre d'espèces observées' (asymptote traditionnellement atteinte dans d'autres habitats lorsque l'effort d'échantillonnage est correctement paramétré). Autrement dit, en grotte, plus on cherche, plus on trouve de nouveaux taxons. La multiplication des visites et des échantillonnages au sein d'une même cavité permettra d'augmenter la connaissance de sa faune, notamment grâce à des observations au fil des saisons et dans des conditions hydrologiques différentes. Ce caractère tout à fait particulier, propre aux études sur la faune

souterraine, est confirmé par les spécialistes en biospéologie (Dethier 2022, comm. pers.). Il en résulte que nous n'avons d'autre choix que de composer avec le caractère très partiel des résultats obtenus lors des coups de sonde d'inventaires en milieu souterrain.

Une dernière caractéristique importante de la faune souterraine est qu'il est extrêmement difficile d'évaluer une taille de population pour ces espèces cavernicoles. Le nombre d'individus observés semble très peu représentatif de l'effectif réel de la population dans l'habitat inventorié. De ce fait, il est recommandé de baser l'évaluation sur la présence/absence des taxons plutôt que sur une quelconque abondance.

3.1 Pourquoi et comment étudier et récolter des organismes souterrains ?

Le nombre de publications sur les habitats souterrains est réduit par rapport à d'autres habitats plus populaires. Il est donc important d'étudier la faune des grottes pour catégoriser les sites et argumenter leur protection. Lors de campagnes d'inventaires de ce genre d'organismes complexes à identifier, les biologistes ont pour habitude de collecter plusieurs individus pour maximiser les chances d'obtenir différentes espèces, sexes ou stades de développement. Concernant les grottes, où les densités d'organismes sont toujours très faibles, la plus grande prudence doit être observée lors de la planification d'un plan d'échantillonnage afin de ne pas perturber gravement les populations, voire entraîner la disparition d'espèces (Hunt et Millar 2001).

Nous proposons d'éviter tant que possible les pièges et en tout cas de bannir l'utilisation des pièges qui tuent les individus (piège avec liquide conservateur, pitfall, etc). En effet, il existe de trop nombreux cas de pièges oubliés dans les cavités ou de situations où le deuxième passage visant à relever le piège et à l'enlever ou le désactiver n'a pas lieu comme prévu pour diverses raisons. Dans ce cas, on peut facilement générer une mortalité très importante pour une espèce ou un groupe taxonomique précis au regard de la taille de la population existant dans la grotte. Même lorsque l'échantillonnage se passe comme

prévu, certains pièges attractifs peuvent conduire à des mortalités importantes de certaines espèces, trop massivement attirées par le piège. Or la protection de la faune doit primer sur son étude, il serait regrettable que l'étude d'un site engendre une destruction ou une perturbation trop impactante pour sa faune. Nous privilégions plutôt des méthodes basées sur de la recherche active, la capture "à vue", la pose d'appâts hors piège et dans certains cas la pose de pièges ou de filets, avec ou sans appâts, mais où l'observateur peut choisir lorsqu'il vient relever le piège les individus qu'il collecte et relâcher le reste dans le milieu.

3.2 Que faut-il échantillonner et quelles informations sont nécessaires ?

Idéalement, dans les gros réseaux karstiques européens, l'accent devrait être mis sur les espèces troglobies, car les espèces troglaphiles sont par définition moins représentatives du milieu. Mais en pratique, la Belgique ne compte que très peu de vraies espèces troglobies, une telle restriction est donc impossible à respecter. La collecte doit être effectuée dans une variété de grottes en utilisant différentes techniques de capture. Le nombre d'individus à collecter doit être évalué en fonction du bon sens et de l'expertise du chercheur. Il est essentiel d'étiqueter soigneusement les échantillons, de prendre des notes sur leur comportement et leur habitat, d'y associer quelques mesures physico-chimiques (abiotiques) et de pointer sur la topographie le point de prélèvement, pour pouvoir ensuite réaliser une cartographie biologique du site étudié.

Il est important d'inventorier un maximum de micro-habitats différents au sein du site (voir liste des micro-habitats en chapitre 2), et de noter pour chaque individu collecté le micro-habitat précis dans lequel il a été trouvé. De même, il est recommandé dans un but d'exhaustivité de couvrir à la fois les zones d'entrée, intermédiaires et profondes. Les individus collectés doivent être placés dans des petits pots bien étanches (eppendorf, flacons, petits tubes) partiellement remplis d'éthanol.

Il est vraiment utile de faire une photo in situ des individus collectés juste avant la collecte pour avoir une référence sur l'aspect des animaux vivants. Une petite étiquette écrite au crayon sur du papier sera idéalement glissée dans chaque tube, avec le numéro de la photo, l'emplacement exact de la collecte, la technique de capture, etc...

Lors des essais dans les 5 grottes tests, nous avons également pointé les zones de prélèvements sur la topographie de la cavité, permettant par la suite de lier les observations biologiques avec une zonation dans la grotte, la nature des parois, la présence d'eau, le niveau de crue et/ou les conditions locales du milieu. Cette annotation des captures sur topo semble utile pour interpréter les résultats.

3.3 Échantillonnage de la faune

Il est recommandé de travailler à l'échelle d'un massif et de considérer des ensembles de sites connectés par des réseaux karstiques plutôt que des grottes individuelles. Les critères de sélection des sites d'échantillonnage incluent la distance de l'entrée de la grotte, le mouvement de l'air (les courants d'air sont généralement défavorables à la faune), et la disponibilité de la nourriture. On peut rechercher des invertébrés dans tous les micro-habitats possibles, dans les crevasses, sous des détritiques ou des cailloux. Même s'ils sont aveugles (ou supposés l'être), les animaux troglobies ont généralement la capacité de détecter la lumière (ou les infra-rouges) et auront donc tendance à fuir l'approche de l'observateur. Si des racines atteignent le plafond de la grotte, il peut être très intéressant de rechercher des invertébrés qui pourraient s'en nourrir.

Pour cela, on peut chercher à vue ou disposer un papier sombre sous les racines qu'on secoue afin de récolter les organismes qui en tombent.

On a ainsi pu retrouver pas mal d'individus en grottes sur des morceaux de bois mort (apportés par les crues), représentant une source abondante de nutriments² dans un milieu qui en manque.

3.4 Méthodes d'échantillonnage de la faune terrestre

3.4.1 La recherche manuelle (voir photo) vise à capturer la plus large variété d'espèces. Elle nécessite une lampe, une bonne vision et une loupe pour capturer des invertébrés de petite taille. L'observateur scrute les murs humides, les sols, les parois, les fentes de dessiccation, les rideaux racinaires, déplace les cailloux et prélève les individus observés.

Les araignées peuvent aussi être repérées par leurs toiles (on peut repérer les fils très fins en soufflant sur la paroi). Les spécimens peuvent être collectés avec une pince (souple ou rigide) ou un pinceau, voire dans certains cas d'autres outils comme un aspirateur à bouche ou encore un joint de robinet pour collecter les collemboles à la surface de l'eau.



² Dans la grotte de Lyell (étage inférieur), nous avons eu la surprise de découvrir une série de plaquettes en bois, posées sur le sol. Elles avaient probablement été placées par les biospéologues des Chercheurs de la Wallonie qui depuis de nombreuses années évaluent le bon état des populations dans cette cavité et qui tentaient ainsi d'attirer vers les réseaux pénétrables à l'homme un certain nombre d'espèces cavernicoles.

3.4.2 L'appâtage (voir photo) est réalisé en utilisant des appâts tels que le fromage (de préférence odorant et coulant), la viande crue ou cuite, voire de la nourriture pour chat, en petite quantité (une cuillère à café suffit). L'appât est laissé sur site quelques jours, caché sous une pierre ou laissé à l'air libre, pour ensuite revenir prélever les organismes attirés. Un auteur (qui souhaite rester anonyme !) propose même d'utiliser de l'excrément humain comme appât, toujours disponible et efficace,... quoique peu ragoutant ! On peut aussi essayer d'autres types d'appâts tels que des fruits secs ou des matières sucrées. D'une manière générale, les pièges à appât non-létaux peuvent être utilisés, mais ils doivent être surveillés pour éviter de perturber gravement les populations. L'appât doit si possible être retiré de la cavité inventoriée après la récolte de la faune.



3.4.3 Sac de litière forestière : On peut créer un habitat artificiel attractif au moyen des feuilles mortes humidifiées disposées dans une poche de treillis (maille d'environ 5 mm, style sac à pommes de terre). Les feuilles doivent bien entendu préalablement être minutieusement nettoyées à l'eau pour éliminer d'éventuels organismes exotiques à la grotte. Ce type d'appât est certainement le moins invasif, il est donc à recommander. Par contre la recherche des invertébrés peut être compliquée. Il faut utiliser une bonne lampe et idéalement un bac rempli d'eau où l'on plonge les feuilles pour repérer les invertébrés qui remonteront à la surface. L'appât de litière peut aussi être récolté dans un sac plastique pour être trié hors de la grotte.

3.4.4 Le piège à fosse (pitfall) à appât

Un pitfall est un récipient enterré dans le substrat et dont le bord affleure à la surface. Les invertébrés actifs à proximité tombent dans le piège et sont tués par un liquide de préservation (solution saline, glycol,...).

Nous proposons de ne pas utiliser cette méthode létale et non sélective en raison de son caractère potentiellement massivement destructeur !

3.4.5 Berlèse

Un système réputé pour la collecte d'animaux terricoles ou inclus dans des sédiments (notamment les acariens) consiste à prélever de la terre ou des sédiments dans la grotte. Revenu au laboratoire, cet échantillon est placé dans un tamis mis dans un entonnoir, avec une source de chaleur et de lumière au-dessus de la terre. Lorsque celle-ci va chauffer et sécher les sédiments, les animaux contenus vont descendre jusqu'à tomber dans l'entonnoir qui est posé sur un récipient d'éthanol.

L'avantage de la méthode tient dans le fait qu'on se contente de prélever un certain volume de sédiment meuble dans la cavité. La phase d'extraction (via la chaleur/lumière) et la détermination des organismes se faisant en labo dans des conditions beaucoup plus confortables, avec un bon éclairage et la possibilité d'utiliser un binoculaire directement pour faire les déterminations. Cette technique a notamment fait ses preuves pour collecter les acariens cavernicoles, dont plusieurs nouvelles espèces ont pu ainsi être déterminées en Belgique (voir Ducarme, 2004).

3.4.6 Autres méthodes

Le pitfall non légal, constitué d'un bac aux parois lisses, enterré mais dépourvu de tout liquide, est une solution permettant de réduire les impacts négatifs sur les populations. Dans ce cas, il faut penser à créer des abris dans le fond, où les organismes peuvent se cacher, sinon ils risquent de s'entre-dévorer. Ceci nécessite un plus grand récipient (large ouverture) pour créer de telles conditions. Ce type de méthode doit être utilisé avec précaution et doit être rendu inopérant (enlever le bac et reboucher le trou) dès que la campagne de récolte est terminée.

Notons qu'il peut être pertinent d'effectuer aussi des récoltes en surface près de l'entrée de la grotte pour déterminer quelles espèces sont présentes sous terre de manière accidentelle. Mais cela multiplie les efforts de récolte et de détermination.

3.5 Méthodes d'échantillonnage de la faune aquatique

Le protocole d'échantillonnage développé dans le cadre du projet européen PASCALIS (Malard 2002) est une des références incontournables à ce sujet.

Afin de se concentrer sur la faune propre à la grotte étudiée, il vaut mieux préférer l'eau de percolation ou l'eau stagnante plutôt que les rivières souterraines, qui charrient de nombreux organismes en provenance de l'extérieur.

3.5.1 Filet à main

On peut soit disposer un filet dans un écoulement durant quelques minutes (voir photo) soit remuer et frotter des pierres ou débris dans le courant pour récupérer les organismes. On retire ensuite les plus gros débris pour transférer le filtrat dans un récipient (soit un récipient vide pour faire un tri en labo peu après, soit directement dans de l'éthanol si la quantité à récolter est limitée). Les petits organismes très fragiles peuvent être récoltés avec une pipette ou un pinceau. La maille du filet doit être au maximum de 250 microns pour retenir les copépodes et les ostracodes mais on peut descendre jusqu'à 60 microns de réticulation pour collecter les espèces/individus les plus petits ! Pour ne pas contaminer l'échantillon lors de l'usage suivant, il est important de bien rincer le filet à l'envers dans le courant d'eau après usage.



3.5.2 Pièges aquatiques à appât

On utilise une bouteille en plastique (genre soda 50 ml) dont le haut a été découpé et est re-positionné vers l'intérieur de la bouteille en système non-retour. On peut percer le fond de la bouteille de plusieurs trous bouchés par du filet à fine maille, mais ce n'est pas obligatoire. On place dans la bouteille un appât qui ne va pas trop se décomposer dans l'eau, tel un scampi cru ou un morceau de jambon. Les organismes aquatiques détecteront l'appât dont des fragments sont emportés par le courant, il faut donc si possible disposer l'entrée "non-retour" vers l'aval et le fond de la bouteille vers l'amont. Ce dispositif devra être lesté ou bloqué avec des pierres, une attache par une corde à un élément hors de l'eau facilite la récupération. Attention, il s'agit d'un piège qu'il faut relever dans les quelques jours qui suivent sa pose et qui doit être complètement retiré du site après capture, au risque d'entraîner la mortalité des individus piégés.

3.5.3 Sac de litière immergé

La procédure est la même que pour l'échantillonnage terrestre, mais on immerge le sac dans l'eau, qui constitue un appât (matière organique) et attire la faune détritiphage.



3.5.4 La collecte à l'aide de bouteilles 'Brancelj'

Un des défis des biospéologues est d'emporter du matériel de récolte sous terre, lequel doit donc être suffisamment léger, robuste, peu encombrant et idéalement facile à confectionner à bas prix. Le biologiste slovène Anton Brancelj a décrit quelques réalisations de ce type pour lesquelles le seul matériel nécessaire sont : bouteilles/flacons en plastique, colle, tulle à maille fine. L'auteur décrit succinctement et illustre comment construire une pompe à bouche, un récipient pour écoper et une bouteille de filtration (voir illustration issue de Brancelj 2004) qui permet de filtrer de grandes quantités d'eau afin de concentrer les organismes qui s'y trouvent, notamment les minuscules copépodes, ostracodes et branchiopodes.

3.6 Équipement

3.6.1 Les récipients et le liquide conservateur

Si on vise une identification morphologique des spécimens collectés, le plus économique est d'utiliser des récipients étanches en plastique contenant de l'éthanol à 80 %³ dénaturé pour tuer les animaux récoltés et conserver les échantillons (avec éventuellement 1-2 gouttes de glycérine pour conserver la flexibilité des appendices). Pour les identifications sur base d'ADN, l'éthanol doit être pur (non dénaturé) et à 99%. Il est essentiel d'étiqueter de manière la plus complète possible les échantillons au moment de la collecte et de prendre des notes sur le terrain.

3.6.2 Les étiquettes

Il faut tout étiqueter au moment de la récolte, quitte à ré-étiqueter proprement peu de temps après au moment du tri ! Il convient de noter la date et le nom (ou code) du site, le micro-habitat où le prélèvement a été réalisé, la technique de récolte, le numéro des photos prises in situ, etc. Une petite étiquette sur papier blanc, écrite au crayon peut être placée directement dans le récipient. Il ne faut pas écrire sur le récipient au marqueur indélébile car des fuites d'alcool sont fréquentes et pourraient effacer toutes les annotations.

3.6.3 Base de données

De retour au labo, la création d'une base de données avec un identifiant unique pour chaque spécimen (identifiant écrit sur une étiquette dans l'échantillon) et toutes les informations pratiques concernant la récolte est utile. Cette même base de données pourra par la suite reprendre le nom de l'espèce ou du niveau taxonomique le plus précis possible une fois l'identification réalisée (quelle que soit la méthode d'identification).

4 Techniques d'identification

4.1 Identification morphologique

L'identification morphologique de la faune collectée en grotte se base en général sur une observation à la loupe binoculaire (grossissement à adapter à la taille de l'individu, souvent 10x ou 20x). Un bon appareil binoculaire avec une bonne lampe sont indispensables.

Dans d'autres cas, le recours à un microscope sera requis. L'identification est basée sur une reconnaissance visuelle à l'aide de critères variables selon les groupes. Une bonne source de clés d'identification et d'outils d'aide à la détermination peut être trouvée sur le site web du groupe d'étude de biospéologie (GEB) de la Fédération Française de Spéléologie : <https://geb.ffspeleo.fr/> (notamment dans le menu Déterminations (aide)). Des clés ou ouvrages de références peuvent également être partagés à la demande par différentes personnes de la communauté des naturalistes ou des biospéologues. Des livres tels que Biospéologie (Dethier et Rochez, 2022) ou Die Hölentiere Deutschlands (Zaenker et al., 2020) sont de bons guides de référence pour les premières étapes de classification en grands groupes taxonomiques. Le fait de dédier du temps de travail d'une personne présentant de bonnes aptitudes d'identification des invertébrés, ayant par ailleurs accès à un bon bino semble essentiel pour cette partie. De même, une auto-formation à l'identification de certains groupes semble nécessaire pour mener à bien la mission.

L'identification à l'espèce présente un niveau de difficulté variable selon les groupes. La mise en place de collaborations avec des experts de certains groupes taxonomiques, à qui l'on peut envoyer pour identification morphologique les spécimens de ce groupe après un premier tri grossier, est une piste probablement incontournable. Certains contacts sont listés sur le site du GEB (menu le GEB et son réseau > les acteurs du GEB > liste des détermineurs), d'autres personnes ont été consultées dans le cadre de la présente étude 8310 et les contacts seront fournis au DEMNA. Il va de soi que l'existence de spécialistes n'est pas garantie pour tous les groupes, ni leur disponibilité le cas échéant, qu'ils soient professionnels ou volontaires, payés ou non pour leur travail d'identification. Le nombre et la disponibilité des experts sont clairement en diminution, ce qui peut mener à des impasses faute de taxonomistes dans certains groupes. De plus, leur capacité à aider dépend du nombre d'échantillons à identifier. L'établissement d'une relation de confiance avec les personnes-ressources est probablement un des facteurs-clé de l'identification morphologique de la faune

³ Si le taux d'éthanol est plus élevé, il suffit de le diluer avec de l'eau distillée.

souterraine. Le fait que la faune souterraine Wallonne soit relativement “banale” et généraliste comparée à d'autres régions d'Europe (on pense notamment à la Slovénie et à tout l'arc dinarique) rend par ailleurs le travail moins excitant et moins valorisant pour le taxonomiste extérieur.

Investir du temps pour apprendre à identifier certains groupes, constituer des collections de référence, participer à des échanges avec des spécialistes, se plonger dans la littérature, faire des identifications et demander ensuite une validation à un spécialiste sont vraisemblablement des étapes nécessaires pour acquérir une certaine confiance dans les identifications réalisées. Le choix des groupes dans lesquels on investit du temps devrait idéalement être orienté vers les groupes qui comptent des espèces troglobies en Belgique.

4.2 Identification génétique

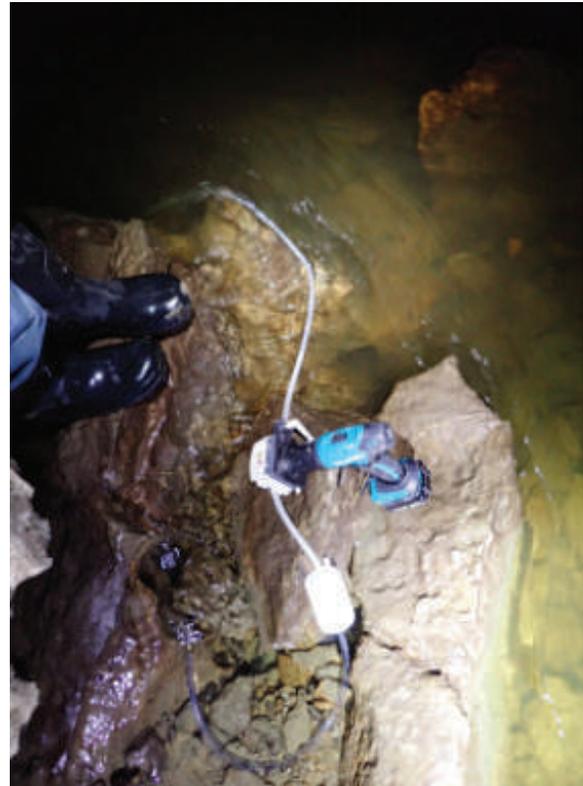
Afin de tenter de pallier aux difficultés, mentionnées ci-dessus, de détermination morphologique des espèces, nous avons testé dans le cadre de cette étude des analyses avec des technologies « de pointe » d'identification d'ADN (barcoding, metabarcoding et ADN environnemental), en collaboration avec le laboratoire de génétique de la conservation de l'ULiège. Ces analyses visaient à évaluer leur potentiel dans le cadre des inventaires biologiques réalisés en grotte et le résultat est assez mitigé !

4.2.1 Identification sur base d'ADN environnemental (ADNe ou eDNA en anglais) pour l'évaluation de la biodiversité souterraine

L'analyse des données de metabarcoding de l'ADN environnemental (ADNe) représente une avancée majeure dans l'évaluation de la biodiversité souterraine. Cette méthode moléculaire offre en théorie une solution rapide et fiable pour étudier les communautés d'organismes présentes dans les écosystèmes souterrains. Cependant, son utilisation dans ces environnements reste relativement rare en comparaison avec d'autres milieux en raison de l'inaccessibilité et de la nature cryptique des grottes et des espèces qui les habitent.

Par ailleurs, notre expérience d'analyse d'ADN environnemental, tant pour l'eau que pour des sédiments ou de la terre montrent que

la fiabilité des résultats en milieu souterrain reste peu concluante, pour des techniques au final relativement coûteuses (voir Nyssen 2024).



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 et stagnante dans deux de nos grottes tests (Grotte de Bohon et Trou du Lac, mitoyen de la Grotte des Collemboles). L'analyse de terre (boue, sédiments) a permis de compléter l'évaluation en matière de recherche d'ADN environnemental.

Les avantages et inconvénients de l'ADN environnemental pour les études souterraines sont :

- *Méthode intégrative* : L'ADNe permet théoriquement d'obtenir une vue globale des communautés d'organismes souterrains plutôt que de se concentrer sur une seule espèce. Elle facilite ainsi l'étude des communautés d'espèces (Sacco 2022).

- *Détection des "traces génétiques"* : Cette méthode permettrait de repérer les "traces génétiques" d'organismes qui peuvent être présents dans des fissures inaccessibles à l'homme, offrant ainsi une perspective unique sur la diversité souterraine. Cette affirmation est toutefois difficile à vérifier lorsque les résultats mènent à des taxons dont l'observation est complexe voire impossible.
- *Bases de données génétiques* : Les bases de données génétiques de référence pour les espèces cavernicoles se sont considérablement enrichies ces dernières années, facilitant grandement l'identification des organismes, surtout pour certains groupes taxonomiques. Toutefois, force est de constater qu'elles restent trop incomplètes dans certains groupes (voire la plupart selon Boulton (2023)), pourtant de grande importance pour l'évaluation correcte des populations d'espèces cavernicoles.
- *Temporalité* : Une des limites de l'ADN environnemental pour les études souterraines est l'absence d'informations sur la présence actuelle vs. présence passée. L'ADNe ne permet pas de distinguer si un organisme est actuellement présent dans l'environnement souterrain ou s'il y était précédemment. La persistance de l'ADN en milieu souterrain est par ailleurs très méconnue et pourrait dans ces conditions favoriser un maintien de l'ADN à bien plus long terme que dans les habitats de surface (Boulton 2023).

Des études basées sur l'analyse d'ADN environnemental commencent à voir le jour et sont d'ailleurs en cours en ce moment en Belgique et dans les pays voisins (Weber et al., 2022). Une publication récente, portant sur des grottes en Australie (West, 2020) a démontré l'efficacité de l'ADNe pour l'analyse de la biodiversité souterraine (avec plusieurs résultats concluants). La publication récente de Boulton (2023) liste par contre une série de limitations à l'utilisation de ces techniques dans le cadre de l'étude des écosystèmes aquatiques souterrains. Parmi celles-ci, la dérive de l'ADN dans les flux d'eau, qui peut parfois atteindre plusieurs km, rend difficile l'identification de l'origine exacte (souterraine ou non) des espèces détectées.

À titre d'exemple, les résultats de nos expérimentations sur les grottes test sont assez nets : sur les 5 capsules (filtrat d'eau) analysées, seules celles de l'eau courante (Ourthe souterraine dans la grotte de Borlon) 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.

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) et par ailleurs souvent identifiés de manière peu précise (rang taxonomique élevé, telle que classe ou ordre par exemple).

En résumé, l'utilisation de l'ADNe fait la promesse d'offrir une opportunité précieuse pour explorer la biodiversité des habitats souterrains, mais cette méthode peut donner des résultats plutôt décevants lorsqu'on la met en pratique en conditions réelles sur le terrain. Si on choisit d'utiliser cette méthode, elle doit donc idéalement être combinée avec d'autres méthodes d'échantillonnage.

4.2.2 Identification sur base d'individus collectés sur le terrain (barcoding ou métabarcoding)

Pour ces analyses, des animaux vivants sont prélevés sur site (en veillant à limiter la contamination des échantillons) et directement placés dans l'éthanol (pur ou quasi pur) pour conservation. Dans le cas des échantillons destinés au barcoding, un seul individu (ou rarement plusieurs s'ils sont très petits et très manifestement de la même espèce) est placé dans un tube puis soumis à l'analyse.

D'autres échantillons rassemblant plusieurs individus de groupes taxonomiques différents peuvent être analysés avec la technique du métabarcoding.

Comme pour l'analyse d'ADN environnemental, la représentativité des taxons cavernicoles dans les banques de données de gènes reste un élément limitant. Seules des études basées sur une identification morphologique suivies d'un séquençage ADN permettent d'alimenter progressivement ces bases de données. Certaines équipes de recherches s'intéressent aux espèces cavernicoles tels que les amphipodes à l'ULB (Weber et al., 2021), ce qui contribue à enrichir les bases de données accessibles. La question de savoir quand les bases de données ADN de référence seront suffisamment complètes pour se passer des volets morphologiques reste toutefois assez épineuse. D'après la présentation de Weigand (2021), les espèces souterraines ne sont pas très représentées dans la librairie BOLD (pourtant alimentée par une équipe allemande qui travaille en particulier sur les espèces cavernicoles) : environ 65% des espèces observées en grotte au Luxembourg y sont représentées, et seulement 20 % des espèces troglobies pour 75 % des troglaphiles et 85% de troglaxènes. Ces proportions sont très variables selon les groupes.

À titre d'exemple, les résultats de nos expérimentations sur les grottes test sont les suivants : 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, 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, mais 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 problème de disponibilité des séquences de référence dans les banques de données mondiales de gènes 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 embêtant 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).

On retiendra que cette méthode peut compléter les méthodes d'échantillonnage conventionnelles et fournir des informations essentielles pour la conservation et la préservation de ces écosystèmes méconnus. En contexte de milieu souterrain et sur base des tests réalisés dans le cadre de ce marché (qui méritent certainement de nouvelles tentatives en affinant les techniques de prélèvement et 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. Si on veut utiliser les techniques

d'identification génétique, il semble impératif de consigner soigneusement lors de la récolte le/les groupes taxonomiques présents dans les tubes analysés pour pouvoir écarter plus facilement les résultats aberrants.

- contacts avec les spécialistes pour l'identification morphologique, envoi des spécimens, etc
- phase d'analyse des résultats.

À titre d'information, les couts des analyses ADN pour un petit nombre d'échantillons sont actuellement de l'ordre de :

5 Aperçu des coûts

La mission confiée à notre consortium dans la conception d'un protocole d'évaluation de l'état de l'habitat 8310, mentionnait explicitement la nécessité d'estimer le coût/bénéfice de chaque technique. Ceci s'applique bien entendu aux inventaires biologiques qui représentent la part la plus complexe de l'étude.

En termes de temps de travail, il faut considérer les phases suivantes :

- préparation / achat du matériel : matériel de collecte, matériel nécessaire à la progression sous terre, matériel additionnel pour les analyses ADN (désinfection des outils entre les collectes, pompe et filtre,...) : le temps requis pour cette phase est difficile à estimer.
- phase de récolte sur le terrain : 1 sortie OU 2 sorties lorsqu'on pose des pièges ou appâts X minimum 2 personnes X 1/2 journée par grotte. Le temps requis pour la phase de récolte est évidemment dépendant de la taille du site, de l'expérience des observateurs, de la connaissance de la cavité, de la proximité géographique des sites à échantillonner. Le temps nécessaire sous terre est légèrement supérieur pour les analyses ADN en raison des précautions à prendre pour éviter les contaminations et le temps de filtration de l'eau pour l'ADNe (20 à 30 minutes / capsule).
- phase de tri des échantillons : cette phase est surtout chronophage pour les analyses morphologiques, elle peut prendre plusieurs jours pour trier les récoltes d'une grotte en une sortie (fonction du nombre d'échantillons, de l'expérience de celui qui trie et du niveau taxonomique d'identification requis)

Méthode	Prix unitaire HTVA
ADNe pour eau filtrée	350-400 €
ADNe pour échantillon de terre / eau	100 €
Métabardcoding bactéries	200 €
Metabarcoding : échantillons de faune	100 €
Barcoding : échantillon de faune	50 €

Au niveau des couts propres à l'identification morphologique, il faut considérer l'envoi par la poste des spécimens aux spécialistes, un éventuel défraiement des spécialistes (cette expertise a été gratuite dans notre cas, mais dépend probablement de la quantité d'échantillons à analyser et de groupe taxonomique concerné), l'achat d'ouvrages de référence pour l'identification et de matériel d'observation (microscope, loupe binoculaire etc). Il faut ici ne pas sous-estimer la valeur de ces déterminations, car elles sont nécessairement assorties d'une grande expérience, que celle-ci soit développée au cours du temps en interne ou acquise par des spécialistes de groupes qui mettent leurs connaissances à profit de ce travail d'identification.

⁴ Le fait d'avoir pu être accompagné par des spéléologues lors des différentes sorties a grandement aidé dans ce travail. C'est même une condition indispensable pour les cavités dont l'accès est plus technique et sportif...

6 conclusion et recommandations

Au niveau de la récolte, l'approche la plus efficace pour maximiser la biodiversité observée combine plusieurs méthodes d'échantillonnage, dans un maximum de micro-habitats différents. Chacune de ces méthodes de recherche mène à des résultats distincts et certaines sont plus adaptées pour la détection de certains groupes taxonomiques. La recherche manuelle est recommandée car elle est moins destructive, alors que les pièges ou appâts sont parfois délaissés car ils nécessitent une installation et une collecte supplémentaire. Dans ce cas, une recherche visuelle attentive, consistant à chercher les animaux dans un rayon d'un mètre autour des pièges pendant 3 à 5 minutes avant leur installation et avant leur récupération, conduit à une amélioration significative de l'exhaustivité des résultats.

Il est important de noter que, quelle que soit la méthode utilisée, on n'atteint jamais dans le milieu souterrain un point où toutes les espèces possibles ont été identifiées (Wynne et al. 2018). En d'autres termes, plus on recherche, plus on découvre de nouveaux taxons au sein d'un même site. Cette observation semble être une caractéristique intrinsèque des études sur la faune souterraine. De même, si lors d'une visite, on ne retrouve pas une espèce qui avait été renseignée dans la grotte, cela ne signifie pas automatiquement qu'elle a disparu et/ou que le milieu s'est détérioré. Cela peut souvent indiquer un échantillonnage insuffisant... ou simplement un manque de chance dans le processus de collecte !

En ce qui concerne l'identification, nos résultats indiquent que les 2 approches (morphologique et ADN) présentent des biais et un certain nombre de difficultés. Une analyse par identification morphologique semble assez incontournable, mais peut probablement utilement être complétée par de l'analyse génétique sur base d'échantillons vivants prélevés in situ.

En conclusion, pour évaluer la biodiversité dans les habitats souterrains, il est essentiel d'utiliser des méthodes d'échantillonnage adaptées.

Outre les techniques d'échantillonnage terrestre et aquatique, l'utilisation de techniques de séquençage d'ADN sur base d'individus frais permettra de collecter des données plus complètes sur la biodiversité souterraine, et dans certains cas de mettre en évidence de nouvelles espèces sous-espèces (voir à ce sujet les travaux Weber et al. (2021) sur le genre *Niphargus*).

L'évaluation de la biodiversité dans les habitats souterrains ne se limite pas à la simple liste d'espèces. Il est important de surveiller la santé globale de l'écosystème. Cela peut inclure l'analyse des interactions entre les espèces, la stabilité des populations, la disponibilité des ressources alimentaires et l'intégrité des habitats souterrains. L'étude des éventuels changements au fil du temps peut également fournir des informations précieuses sur la dynamique de l'écosystème. Cette dynamique doit (comme pour bien des habitats vulnérables) tenir compte et anticiper les possibles effets des changements climatiques (Sanchez-Fernandez 2021).

Annexe 1 :

Liste des espèces considérées comme troglobies présentes en Belgique

D'après Dethier, M., Rochez, G. 2022. Biospéologie, initiation à l'étude de la faune cavernicole de Belgique. Masepas.

Groupe	Famille	Genre et espèce	A	B	C
Rhizopoda	Diffugiidae	<i>Netzelia troglodyta</i> Chardez		x	
Rhizopoda	Euglyphidae	<i>Tracheleuglypha acolla elongata</i> Delhez & Chardez		x	
Turbellaria	Dendrocoelidae	<i>Dendrocoelum collini</i> (de Beauchamp)	x	(x)	x
Turbellaria	Dendrocoelidae	<i>Eudendrocoelum remyi</i> (de Beauchamp)		x	
Oligochaeta	Lumbriculidae	<i>Trichodrilus cernosvitovi</i> Hrabe	x	x	x
Oligochaeta	Lumbriculidae	<i>Trichodrilus leruthi</i> Hrabe	x		
Oligochaeta	Haplotaxidae	<i>Haplotaxis gordioides</i> (Hartmann)	x	x	x
Oligochaeta	Tubificidae	<i>Spirosperma velutinus</i> (Grube)	x		x
Gastropoda	Hydrobiidae	<i>Avenionia roberti</i> (Boeters)	x	x	x
Gastropoda	Hydrobiidae	<i>Bythiospeum</i> sp.			x
Gastropoda	Ferussaciidae	<i>Cecilioides acicula</i> (Müller)		x	x
Ostracoda	Candonidae	<i>Cryptocandona leruthi</i> Klie	x		
Ostracoda	Candonidae	<i>Fabaeformiscandona wegelini</i> (Petkovski)			x
Ostracoda	Candonidae	<i>Pseudocandona zschokkei</i> (Wolf)	x		x
Ostracoda	Candonidae	<i>Schellencandona belgica</i> (Klie)	x		x
Ostracoda	Candonidae	<i>Schellencandona triquetra</i> (Klie)	x	x	x
Ostracoda	Cyprididae	<i>Cavernocypris subterranea</i> (Wolf)	x		x
Cladocera	Eurycercidae	<i>Phreatalona phreatica</i> (Dumont)			x
Copepoda	Cyclopidae	<i>Acanthocyclops</i> gr. <i>venustus</i> (Norman & Scott)			x
Copepoda	Cyclopidae	<i>Acanthocyclops sensitivus</i> (Graeter & Chappuis)	x		x
Copepoda	Cyclopidae	<i>Diacyclops belgicus</i> Kiefer	x		x
Copepoda	Cyclopidae	<i>Diacyclops</i> gr. <i>clandestinus</i> Kiefer	x	x	x
Copepoda	Cyclopidae	<i>Diacyclops</i> gr. <i>languidoides</i> Lilljeborg	x	x	x
Copepoda	Cyclopidae	<i>Graeteriella unisetigera</i> (Graeter)	x	x	x
Copepoda	Cyclopidae	<i>Speocyclops fontinalis</i> Fiers			x
Copepoda	Canthocamptidae	<i>Elaphoidella leruthi</i> Chappuis	x		
Syncarida	Bathynellidae	<i>Antrobathynella stammeri</i> (Jakobi)			x
Amphipoda	Crangonyctidae	<i>Crangonyx subterraneus</i> Bate	x		x
Amphipoda	Niphargidae	<i>Microniphargus leruthi</i> Schellenberg	x	x	x
Amphipoda	Niphargidae	<i>Niphargus aquilex</i> (Schiodte)	x	x	x
Amphipoda	Niphargidae	<i>Niphargus fontanus</i> (Bate)	x	x	x
Amphipoda	Niphargidae	<i>Niphargus kochianus dimorphopus</i> (Stock)		x	x
Amphipoda	Niphargidae	<i>Niphargus kochianus kochianus</i> (Bate)	x		x
Amphipoda	Niphargidae	<i>Niphargus pachypus</i> Schellenberg	x	x	
Amphipoda	Niphargidae	<i>Niphargus puteanus</i> Koch		x	
Amphipoda	Niphargidae	<i>Niphargus schellenbergi</i> Karaman	x	x	x
Amphipoda	Niphargidae	<i>Niphargus virei</i> Chevreux	x	x	x
Isopoda	Asellidae	<i>Proasellus cavaticus</i> (Leydig)	x	x	x
Isopoda	Asellidae	<i>Proasellus hermallensis</i> (Arcangeli)	x	x	x
Acari	Acaridae	<i>Schwiebea cavernicola</i> Vitzthum	x		
Acari	Feltriidae	<i>Feltria subterranea</i> Viets	x		

Groupe	Famille	Genre et espèce	A	B	C
Acari	Limnohalacaridae	<i>Lobohalacarus weberi</i> Romijn & Viets	x		x
Acari	Limnohalacaridae	<i>Parasoldanellonyx typhlops belgicus</i> Viets	x		
Acari	Limnohalacaridae	<i>Soldanellonyx chappuisi</i> Walter	x		x
Acari	Limnohalacaridae	<i>Soldanellonyx visurgis</i> Viets			x
Acari	Neocaridae	<i>Neocarus hibernicus</i> Halbert			x
Acari	Mononiidae	<i>Stygomononia latipes</i> Szalay			x
Acari	Veigaiidae	<i>Veigaia leruthi</i> Willmann	x		x
Acari	Veigaiidae	<i>Veigaia hubarti</i> Masan & Madej			x
Acari	Damaeidae	<i>Damaeus lengersdorfi</i> (Willmann)	x		x
Acari	Rhagidiidae	<i>Traegardhia cf. dalmatina</i> (Willmann)			x
Acari	Banksinomidae	<i>Gemnazetes cavatica</i> (Kunst)		x	x
Acari	Pachylaelaptidae	<i>Pachyseius angustiventris</i> Willmann	x		x
Acari	Oppiidae	<i>Hypogeoppia belgicae</i> Wauthy & Ducarme			x
Acari	Microzetidae	<i>Miracarus grootaerti</i> Wauthy & Ducarme			x
Araneae	Linyphiidae	<i>Porrhomma rosenhaueri</i> (L. Koch)	x	x	x
Araneae	Linyphiidae	<i>Porrhomma convexum</i> (Westring)		x	x
Araneae	Linyphiidae	<i>Diplocephalus lusiscus</i> (E. Simon)	x	x	
Symphyla	Scolopendrellida	<i>Symphylella major</i> Scheller		x	
Diplura	Campodeidae	<i>Litocampa humilis</i> (Condé)		x	x
Diplura	Campodeidae	<i>Litocampa hubarti</i> Bareth			x
Collembola	Entomobryidae	<i>Pseudosinella vandeli</i> Denis		x	
Collembola	Neanuridae	<i>Gisinea delhezi</i> Massoud		x	
Collembola	Hypogastruridae	<i>Schaefferia willemi</i> (Bonet)	x	x	x
Collembola	Onychiuridae	<i>Deharvengiurus severini</i> (Willem)	x	x	x
Collembola	Tomoceridae	<i>Plutomurus unidentatus</i> Börner	x	x	x
Collembola	Oncopoduridae	<i>Oncopodura dethieri</i> Janssens & De Bruyn	x	x	x
Coleoptera	Pselaphidae	<i>Tychobythinus belgicus</i> (Jeannel)	x	x	x
Nombre d'espèces			68	43	34

Légende :

A : Avant 1950 (période “Leruth”). La source principale est sans conteste le travail monumental de Leruth (1939) sur la faune souterraine de Belgique. Mais il y a aussi l'article de Fage (1933).

B : De 1950 au début des années 1990 (période « Delhez »). François Delhez, biospéologue verviétois, aidé par quelques collègues, s'était alors attaché à reprendre le travail de Leruth. Ses travaux et ceux de ses collaborateurs constituent l'essentiel de nos informations concernant cette période, certains ayant été publiés après sa mort.

C : Période actuelle, postérieure à 1990. À la fin des années 1990, Hubart et Dethier (1999) ont entrepris une nouvelle étude de la faune cavernicole de Belgique, centrée essentiellement sur les espèces troglobies et sur l'évolution de la faune de certaines cavités déjà étudiées par Leruth et Delhez.



ÉTAT DU MILIEU SOUTERRAIN EN WALLONIE MENACES ET MESURES DE PROTECTION

1 Introduction

Notre travail d'élaboration d'indicateurs du bon état de conservation du milieu souterrain liste les différentes menaces qui peuvent impacter sur cette biodiversité spécifique. Les recommandations de gestion formulées au terme de ce travail doivent tendre à limiter ces menaces pour contribuer à la conservation du milieu et des espèces les plus emblématiques et vulnérables de cet écosystème particulier.

L'habitat souterrain ne constitue pas un écosystème fermé. Des échanges s'opèrent avec la surface, notamment via les eaux d'infiltration. Ceux-ci sont d'ailleurs essentiels pour ce milieu dont la chaîne trophique est tronquée en l'absence de lumière et de producteurs primaires. Ces flux d'eau, d'énergie et de matière peuvent aussi altérer le milieu, y apporter une pollution ou en modifier les équilibres. Il s'agit dès lors, lorsqu'on évalue les menaces, de replacer la cavité dans son contexte hydrogéologique en tenant compte de ces échanges à l'échelle de son bassin d'alimentation¹.

La littérature mentionne différentes familles de menaces sur le milieu souterrain et sa biodiversité. Ces menaces ainsi que leur perception ont évolué dans le temps et varient également fortement d'un pays à l'autre, selon la nature des cavités, l'intensité de l'activité anthropique en surface ainsi que la nature de l'exploitation du milieu souterrain (touristique, prélèvements anarchiques d'espèces cavernicoles endémiques, exploitation et étude des spéléothèmes). Par exemple, Dethier & Dumoulin, (Dethier, M. & Dumoulin, C., 2004), mentionnent pour la grotte Monceau à Tilff deux menaces bien distinctes :

une surfréquentation et une pollution des eaux du chanoir de Beaugard.

On peut aussi différencier les menaces sur la faune cavernicole selon leur nature directe ou indirecte : pollution liée à des activités en surface, altération de la qualité des eaux, destruction de cavités pour l'exploitation de la pierre, construction de routes ; voire incidence négative d'un échantillonnage trop intense (collectionneur) de certaines espèces.

Enfin le milieu souterrain, comme d'autres habitats, n'échappe pas à :

- la présence d'espèces exotiques et invasives qui dans certaines circonstances peuvent concurrencer les taxons souterrains ;

- aux conséquences du dérèglement climatique qui pourrait à terme modifier les conditions de vie dans les grottes, jusque-là caractérisées par leur grande stabilité au cours de l'année...

En Wallonie, comme dans la plupart des pays européens, les politiques de conservation du milieu souterrain ont été initiées principalement pour la conservation des chauves-souris, en général sans grande considération des autres formes de vies souterraines, ni de la protection du milieu en tant que tel. Elles se sont par ailleurs souvent focalisées sur la surfréquentation comme cause principale de la dégradation du milieu. Dans cette logique quelque peu restrictive, la protection de l'habitat souterrain s'est résumée au placement de portes et de grilles. Si une trop forte fréquentation des cavités a un effet destructeur évident sur certains sites, c'est cependant une menace parmi bien d'autres, plus difficiles à réguler du fait de leur

¹ Cette approche peut s'inspirer de celle mise en place lors de la protection captages d'eau souterraine (notamment karstiques) qui désigne des zones de protection et de surveillance autour de la prise d'eau en fonction de temps de transfert et de l'existence de points d'infiltration privilégiés mettant la nappe en contact direct avec la surface.

poids économique, de leur aspect diffus et d'une causalité pas toujours évidente à démontrer.

Sur base de notre expérience, nos lectures et recherches, nous avons regroupé différents types de menaces pesant sur le milieu souterrain et la faune cavernicole. Ces menaces sont décrites ci-dessous en regard avec leur influence possible sur la biodiversité souterraine. Nous verrons comment elles peuvent être estimées dans le cadre d'un programme d'évaluation comme celui mené sur le bon état de conservation de l'habitat 8310.

2 LA DESTRUCTION DIRECTE DE L'HABITAT

Contrairement aux habitats de surface, qui sont directement impactés par l'occupation du sol et l'activité humaine, le milieu souterrain peut se maintenir au niveau quantitatif, même en cas d'activité anthropique intense. Ainsi en Europe, les zones humides² (considérées comme des milieux essentiels pour la conservation de la biodiversité) voient leur superficie se réduire drastiquement, mettant à mal l'existence-même de ces milieux et les services écosystémiques qu'ils fournissent. Pour qu'une activité anthropique menace "physiquement" une cavité, il faut que celle-ci s'accompagne d'excavations plus ou moins profondes recoupant les calcaires en trépanant les grottes. C'est potentiellement le cas avec les exploitations de carrières, le développement d'infrastructures et de grands travaux (comme les tunnels), forages, pompes...

Pour Tercafs (Tercafs, R., 1991), en Belgique, la cause principale de la perte directe de l'habitat souterrain est **l'extension des carrières en zone calcaire**. Cette cause est dramatique car irréversible, et a déjà mené à la disparition de plusieurs cavités importantes suite à l'extension de carrières. Celle-ci est soutenue par une demande accrue en matières premières (chaux et ciment) pour la sidérurgie et les travaux publics. Dans un certain nombre de cas, c'est l'avancée du front de taille qui a mené à la découverte de la grotte (voir Grotte de l'Éphémère récemment - Michel, 2020).

Si l'on prend l'exemple des grottes de Ramioul³, les inventaires biologiques réalisés dans ces différentes cavités démontrent qu'elles ont toutes été impactées à des degrés divers par l'avancée de la carrière. L'évolution générale dans ces sites se marque par un appauvrissement de la faune (en particulier les collemboles) sur 4 époques séparées de 30 à 15 ans⁴ (Dethier, M. & Hubart, J-M., 2010). Cette analyse semi-quantitative mesure le nombre d'espèces mais aussi d'individus pour certains groupes critiques. La grotte de Ramioul se trouve enserrée dans une carrière (Carmeuse) dont l'extension a fini par l'isoler et la couper du reste du massif. L'activité extractive s'est également fortement approfondie au cours du temps, descendant nettement sous le niveau piézométrique de la Meuse toute proche avec toutes les conséquences hydrogéologiques possibles et entraînant :

- un abaissement de la nappe phréatique,
- une modification du régime hydrique,
- une perturbation notoire du microclimat souterrain avec assèchement marqué,
- une concentration en gaz très élevée dans la cavité (CO et CO₂)...

Pour Dethier et Hubart (2010), « les troglobies sont devenus quasiment incapables de supporter des fluctuations rapides et/ou importantes de température et d'humidité ». Dans le cas précis de Ramioul, les conséquences écologiques de l'extension de la carrière apparaissent évidentes pour ces auteurs qui y ont réalisé un monitoring régulier.

Les **constructions et les travaux d'équipement** (génie civil) peuvent également détruire directement des cavités et certains écosystèmes souterrains. En France et en Suisse, on connaît plusieurs cas de forage de tunnels qui ont recoupé des cavités (parfois inconnues jusque-là), provoquant leur destruction. La construction de routes dans les régions karstiques, surtout en terrains montagneux où elles s'accompagnent d'ouvertures de tranchées plus ou moins profondes peuvent également endommager des cavités relativement

² D'après les données disponibles, entre 1970 et 2015, les zones humides marines/côtières, ainsi que les zones humides intérieures, auraient régressé de près de 35%, soit un déclin plus de trois fois supérieur au taux de disparition des forêts.

³ Le système des grottes de Ramioul est composé des cavités suivantes : Grotte de Ramioul, Grotte des Végétations, Trou Nicole, Grotte Laminoir et quelques cavités secondaires.

⁴ Période Leruth (années 1930) ; Période Delhez (1955-1970) ; Période Hubart 1980-1997 ; Période actuelle (de 1997 à 2010).

superficielles. Ainsi, ces 10 dernières années en Slovénie, l'extension du réseau routier et autoroutier a abouti à la découverte... et hélas souvent à la destruction, de plus 350 grottes.

Les **exploitations hydrauliques** telles que des captages, barrages⁵, démergement... peuvent profondément modifier l'habitat des organismes stygobies que l'on retrouve dans l'eau contenue dans certaines cavités. Un pompage important⁶ avec assèchement de la nappe et de la grotte entraîne de-facto la disparition dans la cavité de la faune inféodée à l'eau souterraine.

L'impact des captages sur la stygofaune doit cependant être quelque peu relativisé. Ainsi, lors de l'étude PASCALIS -1998-2001 (Martin, P. et al., 2009), un certain nombre de prises d'eau (sources à l'émergence, galeries drainantes, puits dans l'aquifère de la Meuse, drains...) avait été intégré dans le réseau d'échantillonnage de la faune aquatique souterraine. Ces sites représentent des points d'accès à l'eau souterraine et certains ont fourni une faune abondante et diversifiée, avec de nombreuses espèces stygobies. La présence d'un captage ne signifie donc pas systématiquement la destruction de l'écosystème souterrain, surtout s'il ne s'accompagne pas d'un pompage avec abaissement de la nappe.

3 LES IMPACTS INDIRECTS LIÉS AUX ACTIVITÉS EN SURFACE

Les terrains karstiques contiennent de nombreuses ressources naturelles, telles que l'eau douce pour la consommation humaine, une grande biodiversité à la surface du sol et dans le sous-sol. Ces mêmes terrains constituent "le substrat" pour d'importantes productions agricoles. Toutes ces ressources naturelles sont sensibles à certaines activités humaines en surface. Les ressources en eau souterraine des aquifères karstiques sont vulnérables à la contamination⁷, à la surexploitation et aux changements climatiques, sans compter l'érosion irréversible causée par des techniques agricoles inadaptées (Goldscheider, 2012).

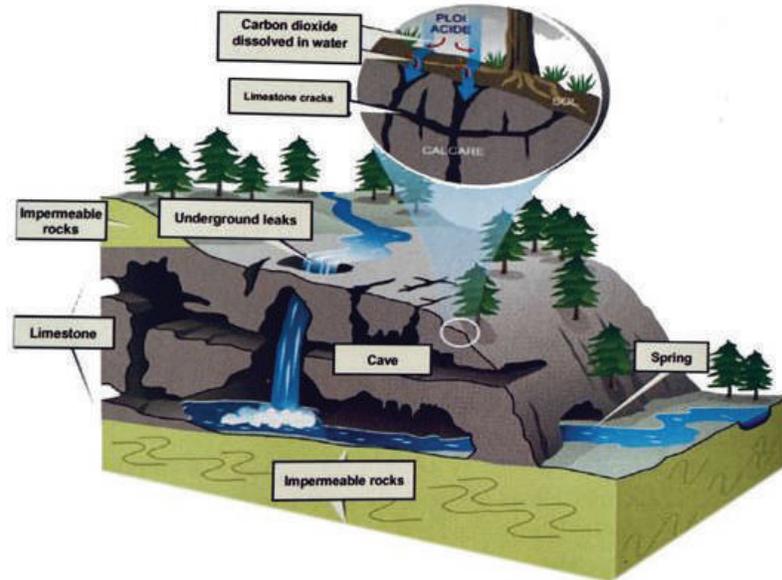


Schéma de la notion de vulnérabilité karstique à la contamination. Il faut noter qu'en Wallonie, le sol couvert (cultures, forêts...) représente une protection supplémentaire (Badescu, 2009).

Selon l'UNESCO, les eaux souterraines contenues dans les aquifères représentent la source d'eau potable la plus répandue. Ces réserves souterraines couvriraient actuellement ¼ des besoins en eau potable à l'échelle mondiale ! Depuis la fin des années soixante, le Programme Hydrologique International de l'UNESCO (PHI) a consacré une attention particulière à ces systèmes⁸. Ce programme a pour but d'aider les pays à améliorer la gestion des aquifères dans le cadre de l'élaboration des politiques nationales en faveur de l'eau (Aureli, 2010).

En Europe, les terrains carbonatés occupent 35% de la surface terrestre et une partie importante de l'approvisionnement en eau potable est extraite des aquifères karstiques. Dans certains pays européens, l'eau karstique contribue pour 50% à l'approvisionnement total en eau potable, et dans de nombreuses régions, c'est la seule ressource en eau douce disponible (Goldscheider, 2005). Les eaux souterraines sont donc devenues une source de richesse et de bien-être pour une société qui montre un besoin croissant en eau.

⁵ Les barrages sont rares en Wallonie en zone calcaire mais dans d'autres pays, certains d'entre eux ont totalement noyé certaines vallées, aboutissant au remplissage des cavités par de l'eau sur parfois plusieurs dizaines de mètres.

⁶ Le pompage est également associé à certaines activités extractives, où l'abaissement local du niveau de la nappe est volontairement provoqué par une exhaure, afin de pouvoir approfondir les exploitations.

⁷ Margat (1968) a introduit le terme « vulnérabilité des eaux souterraines à la contamination ». Les termes « vulnérabilité à la contamination » et « protection naturelle contre la contamination » peuvent aussi être utilisés. Une vulnérabilité élevée signifie une faible protection naturelle (Goldscheider, 2005).

⁸ Le PHI est un Programme de l'UNESCO sur la gestion des ressources en eau, la recherche, l'éducation et le renforcement des capacités et est également le seul programme des Nations Unies sur les sciences de l'eau. Le PHI cherche ainsi à aborder les liens entre les systèmes sous stress et les réponses de la société à ces stress. <https://fr.unesco.org/themes/securite-approvisionnement-eau/hydrologie>

En Wallonie, la part des eaux souterraines provenant d'aquifères carbonatés (calcaires et craies) dans les eaux de distribution dépasse aujourd'hui les 70% (Rouelle, 2014) ! C'est donc un bien de première nécessité stratégique dont la protection et la bonne gestion est essentielle pour notre avenir.

Au-delà de l'aspect stratégique pour l'homme de cette ressource, le milieu souterrain est directement impacté par la qualité de l'eau, elle-même menacée de façon indirecte par les activités humaines en surface. C'est tout le biotope souterrain qui est menacé. De nombreuses études ont démontré que dans les eaux de surface polluées, les espèces sensibles disparaissent les unes après les autres. Dans nos rivières, on constate une perte générale de biodiversité et un gain en biomasse (lié en grande partie à l'eutrophisation) lorsque la qualité des eaux se détériore (Dethier, M. & Dumoulin, C., 2004). L'impact est à définir de façon plus précise pour la biodiversité souterraine.

a/ enrichissement en matière organique :

Dans un système karstique où les eaux souterraines et les eaux de surface sont intimement interconnectées et où les terrains présentent une importante perméabilité, les pollutions organiques en surface affectent très directement les eaux souterraines. Elles entraînent un glissement des communautés stygobies et stygophiles vers des communautés stygoxènes (Dethier, M. & Hubart, J-M., 2010). Ce glissement dans la composition spécifique serait probablement lié à une modification de la chaîne trophique, les eaux enrichies en matières organiques permettant la prolifération, même sous terre, d'espèces stygoxènes (Dethier, M. & Dumoulin, C., 2004).

b/ dégradation des sols et ruissellement :

les machines agricoles ou d'autres activités peuvent facilement endommager le sol et ne laisser que du calcaire nu. De même, l'enlèvement ou la dégradation de la végétation peut entraîner une érosion rapide du sol par des précipitations intenses. Les particules fines, mises en suspension, vont s'infiltrer avec les eaux dans le karst. Elles entraînent une hausse de la turbidité et peuvent colmater certains conduits souterrains.

Les impacts d'une coupe à blanc au-dessus d'un massif karstique contenant des cavités biologiquement très riches restent mal documentés mais il semble évident qu'ils ont une influence sur l'écosystème souterrain.

c/ les pollutions physico-chimiques :

un certain nombre d'activités anthropiques (non seulement agricoles, mais aussi industrielles, ainsi que le rejet d'eaux usées) s'accompagnent de la libération de polluants physico-chimiques dans l'environnement. Ceux-ci peuvent affecter le milieu souterrain, notamment via les infiltrations d'eau rapides mettant directement en connexion le polluant de surface avec les cavités sous-jacentes.

On peut schématiquement regrouper les polluants selon les classes suivantes :

- **La pollution physico-chimique**, due à la présence de substances non toxiques, dissoutes ou en suspension dans les eaux d'infiltration ou de percolation. La pollution physico-chimique a une action destructrice sur l'équilibre de l'écosystème souterrain et les mécanismes de dissolution et de concrétionnement. Elle peut également agir sur les phénomènes de sédimentation et favoriser des dépôts peu souhaitables au sein des réseaux karstiques. L'incidence de ce type de modification physico-chimique sur la faune des grottes est mal documentée et mal connue.
- **La pollution chimique** est la conséquence de la toxicité de certains composés chimiques en suspension ou en solution dans l'eau (métaux lourds, hydrocarbures, nitrates, phosphates et autres sels utilisés en agriculture...). Elle constitue une véritable menace pour la santé humaine. Les réserves en eau souterraine sont particulièrement sensibles à ce type de pollution qui les rend impropres à la consommation. Très peu d'études toxicologiques ont été réalisées sur ces différentes substances s'appliquant à des organismes souterrains. On peut cependant estimer (voir note sur les paramètres abiotiques caractérisant le bon état du milieu souterrain) que les métaux lourds et les hydrocarbures présentent les impacts les plus délétères sur la macrofaune invertébrée souterraine.

- **La pollution par des substances organiques** de synthèse comme les pesticides, insecticides (Maazouzi, 2016), PCB (polychlorobiphényle, substance très utilisée dans l'industrie des matières plastiques) et divers détergents dissous dans l'eau, est un autre type de pollution chimique particulièrement dommageable pour l'écosystème karstique, les organismes souterrains et les réserves en eau souterraine.
- **La pollution bactériologique** résulte d'une contamination par des substances organiques rejetées par les élevages intensifs, abattoirs, laiteries, industries alimentaires, papeteries, égouts... Elle peut profondément perturber l'écosystème souterrain et, tout comme la pollution chimique, constitue une grave menace pour la santé humaine. Le milieu karstique est particulièrement favorable à la transmission rapide d'une pollution

bactériologique. Même après épuration des eaux usées, certains agents pathogènes sont encore virulents et susceptibles de contaminer les nappes aquifères du karst pendant de longues périodes.

d/ d'autres types de pollution : on peut rencontrer des traces d'hydrocarbure dans les écoulements souterrains. Actuellement, des déversements de ces produits s'effectuent dans le sol, les huiles usées notamment. Les stockages souterrains ou en carrières sont aussi un autre type de menace. Les carrières désaffectées ont été utilisées dans les années 1980 comme dépôts de produits dangereux. Les carrières et décharges, non encore réhabilitées, restent des endroits propices à l'infiltration rapide des pollutions vers les circulations souterraines.

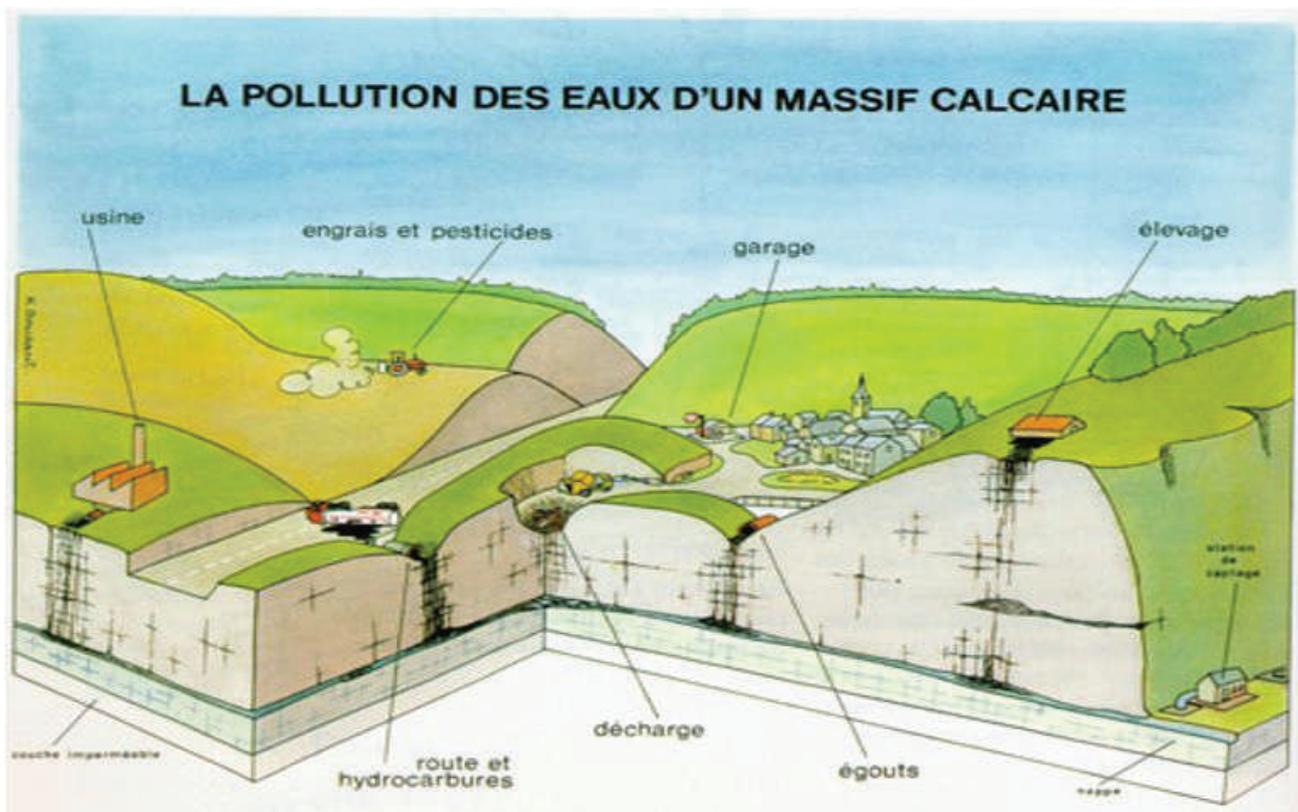


Diagramme présentant les différents types de pollutions pouvant affecter un massif calcaire (campagne de sensibilisation CWEPS)

4 LA SURFRÉQUENTATION DES CAVITÉS

La surfréquentation de certaines cavités peut entraîner diverses modifications potentiellement nuisibles pour la faune cavernicole. Cette problématique a été fortement mise en avant dans les politiques de conservation des chiroptères, où les effets d'un "dérangement" causé par des visites trop nombreuses et répétées, en particulier en période d'hibernation, peuvent avoir des conséquences catastrophiques.

Avant de tenter d'estimer l'impact de la surfréquentation sur le biotope souterrain dans son ensemble, il est nécessaire de se demander ce que l'on entend par surfréquentation. À partir de quel moment le taux de fréquentation d'une cavité impacte-t-elle le milieu ?

Il est nécessaire de rappeler que la plupart des données publiées se basent sur une interprétation de la part des auteurs. Il n'existe aucune étude scientifique probante permettant d'évaluer et/ou de quantifier l'influence de la (sur-)fréquentation des cavités sur le biotope souterrain, que ce soit au niveau microclimatique, taux de CO₂ ou milieu de vie tel que l'argile. En cas d'impact, celui-ci est localisé sur une zone limitée et généralement balisée. Dans la plupart des cavités, les zones de passage ne représentent qu'une partie infime de l'habitat. Le milieu interstitiel est nettement plus riche que les grandes galeries où ont lieu la plupart des relevés. L'argile est un indicateur récurrent. La compaction et la destruction de fentes de retrait (dessiccation) par piétinement, ainsi que les contacts fréquents des visiteurs avec les parois peut altérer le milieu de vie des espèces cavernicoles dépendantes de ces dépôts argileux.

Les passages répétés introduisent, dans une argile saine, des bactéries hétérotrophes (c'est-à-dire d'origine extérieure aux grottes) et des matières organiques. Les caractéristiques de l'argile sont modifiées et ces bactéries hétérotrophes se développent aux dépens des bactéries endogènes présentes normalement dans les cavités (Hubart, J-M., 2001).

On sait que l'argile non compactée, constitue un milieu de vie riche pour beaucoup

d'espèces cavernicoles et une matière indispensable au bon développement de certains troglobies, tant au niveau nutritif que pour la reproduction. L'élimination des propriétés nutritives et fongicides de l'argile crée un déséquilibre pour la survie de la faune cavernicole. Outre les passages répétés sur l'argile, la prolifération des bactéries hétérotrophes peut survenir par l'abandon de déchets organiques de la part des visiteurs.

Hubart, ainsi que d'autres spécialistes, présentent l'argile comme étant un biotope en soi. Il est donc nécessaire de le considérer comme un indicateur de conservation du milieu souterrain. Cela constitue donc un milieu à échantillonner pour notre étude.

Dethier a réalisé plusieurs relevés d'espèces dans la grotte de Monceau, grotte anciennement aménagée pour le tourisme. D'après les espèces récoltées de 1930 à 2000, sur base des études de Leruth, on constate l'évolution de deux groupes cavernicoles. Le groupe des araignées a diminué (perte de plusieurs trogliphiles) et le groupe des isopodes a augmenté entre les deux périodes. Dethier et Dumoulin interprètent cela comme une conséquence de la fréquentation de la cavité avec écrasement de l'argile et l'apport de déchets, nourriture favorable aux isopodes (Dethier, M. & Dumoulin, C., 2004).

Bien que les grottes touristiques ne soient pas considérées dans l'habitat 8310, elles représentent des sites de référence intéressants. Ce sont en effet (et de très loin) les cavités les plus fréquentées... et c'est également dans celles-ci que se concentrent le plus d'études et d'évaluations quant à l'incidence des visites sur le milieu (de Freitas, 2010) (Constantin, 2021). Parmi les éléments à surveiller dans les grottes touristiques, on cite généralement :

- les passerelles et les rampes en bois abandonnées, qui constituent des sources de nourriture pour les microorganismes, ce qui entraîne une décomposition et une augmentation des émissions de dioxyde de carbone dans l'air souterrain
- l'éclairage et les émissions lumineuses à large spectre, qui peuvent conduire à la formation de « lampflora » (algues et mousses) sur les sédiments, les spéléothèmes et les parois des cavités

- le visiteur lui-même et les aménagements, qui entraînent un assèchement généralisé de la cavité ainsi qu'une hausse des concentrations en CO₂ (liées à la respiration).

Ces impacts sont cumulatifs et conduisent souvent à une dégradation irréversible de l'écosystème de la grotte. Des comparaisons intéressantes ont été faites sur la biodiversité des invertébrés à proximité du passage des touristes et dans des zones plus épargnées et éloignées de ce flux dans ces mêmes cavités (Pacheco, 2020).

Certaines recommandations formulées, notamment par l'Union Internationale de Spéléologie (Cigna, 2002) pour la bonne gestion des cavités touristiques et les méthodes pour estimer le "degré de surfréquentation" mériteraient d'être adaptées pour les cavités non ouvertes au public.

5 LA ESPECES INVASIVES ET ACCIDENTELLES

Les espèces invasives

Le milieu souterrain, comme tout autre habitat, n'est pas à l'abri (malgré les conditions très particulières qui y règnent) d'une modification ou d'une "perturbation" de sa composition faunistique par des espèces allochtones qui viennent coloniser cet écosystème.

Ce processus peut s'intensifier si les conditions du milieu souterrain se modifient et deviennent plus favorables à l'implantation d'organismes à large spectre, jusque-là mal adaptés à cet écosystème. Si l'intérêt de la biodiversité souterraine tient pour partie à son taux d'endémisme élevé, à la présence d'espèces présentant un haut degré d'adaptation à ce milieu et à des formes relictives d'invertébrés qui ont trouvé "refuge" dans cet

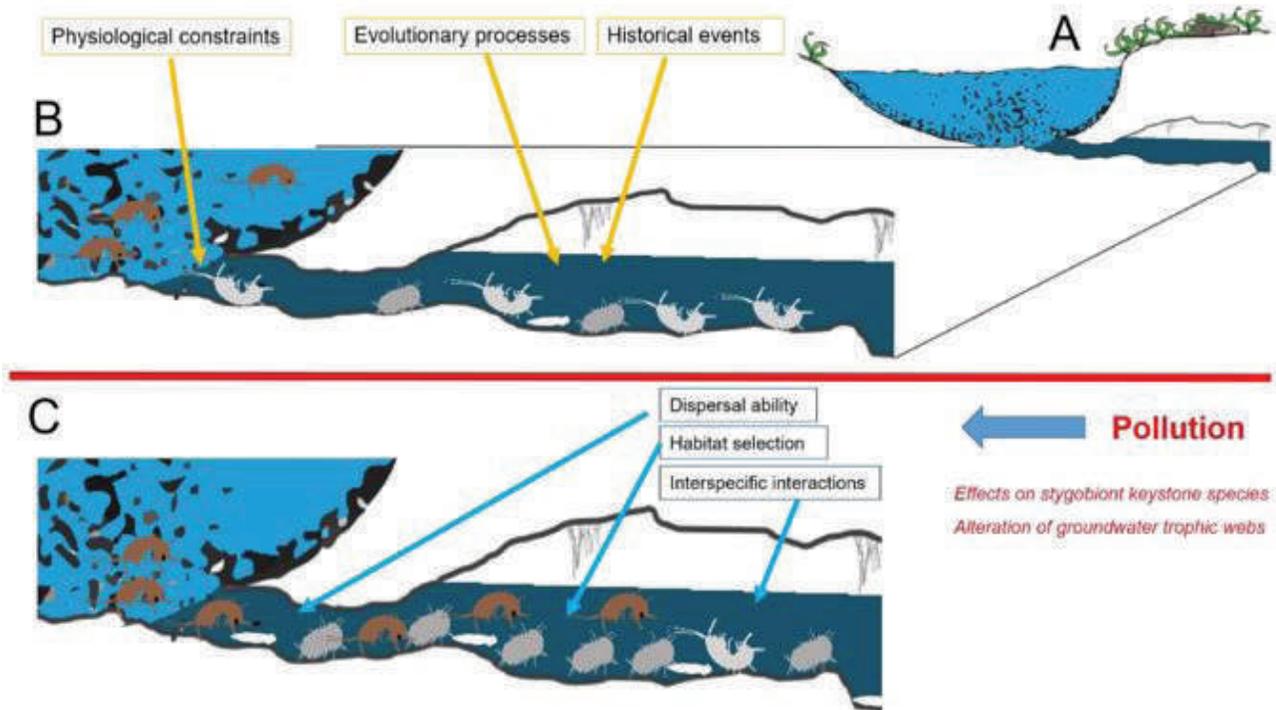


Diagramme du tronçon terminal d'un réseau d'eaux souterraines (A). Dans les conditions naturelles (B), la composition des espèces d'une communauté locale d'eaux souterraines est la conséquence de multiples facteurs qui interagissent de manière hiérarchique. Tout au long de l'évolution et des événements historiques qui ont façonné les adaptations des stygobies, les contraintes chimio-physiologiques limitent les échanges entre les espèces épigées et souterraines. Lorsque la pollution se produit (C), les effets sur les espèces-clés stygobies et les réseaux trophiques peuvent modifier les interactions interspécifiques, la capacité de dispersion des espèces épigées et le choix de l'habitat, avec de graves conséquences à l'échelle de l'ensemble de la communauté. Les figures brunes illustrent les animaux épigées (amphipodes), tandis que les gris et les blancs représentent les stygobies (amphipodes, isopodes et planaires) (Manenti, R., 2021, p. 7).

environnement particulier, une concurrence avec des espèces invasives représente une vraie menace pour les espèces inféodées aux milieux souterrains.

L'homme peut être à l'origine de la présence d'espèces invasives, soit par "importation" directe d'organismes provenant d'autres régions, soit indirectement en modifiant les conditions du milieu (Dethier, M. & Dumoulin, C., 2004).

Des facteurs tels que le changement climatique, un apport nutritif (chaîne trophique) plus important vers le sous-sol et/ou une connexion plus directe entre le sol et le sous-sol, peuvent entraîner la colonisation milieu souterrain par des espèces invasives.

Les espèces accidentelles

Il existe par ailleurs un ensemble d'espèces qui peuvent se retrouver accidentellement sous terre. C'est notamment le cas lors d'effondrement et/ou de crues où des organismes épigés sont emportés par les flots vers le sous-sol.

Leur taux de survie dans le milieu souterrain est variable pour ces espèces. Ils ne représentent généralement pas une concurrence pour les taxons cavernicoles... mais bien une source possible d'alimentation, dans un milieu exempt de producteurs primaires. On peut constater en différentes grottes une accumulation d'organismes et une hausse (plus ou moins temporaire) du nombre d'individus autour de cette source inattendue de nourriture.

6 LES CHANGEMENTS CLIMATIQUES

Le réchauffement climatique est une des plus grandes préoccupations actuelles, aux répercussions majeures en matière de conservation de la biodiversité. Au vu de l'évolution récente de la situation et des prévisions futures, il semble indispensable de lier la biodiversité souterraine à la préoccupation du changement et de l'évolution du climat.

Pour rappel, le climat au cours du dernier million d'années se caractérise par une succession de périodes glaciaires et interglaciaires. Les phases chaudes ont succédé aux périodes

froides impliquant souvent un changement radical de l'environnement extérieur. Depuis la révolution industrielle, au XIXe siècle, l'impact humain sur le climat avec, en particulier, les émissions de gaz à effet de serre, est devenu de plus en plus perceptible, accélérant et amplifiant les changements naturels du système terrestre (Luetscher, 2021). Il en résulte un réchauffement généralisé, qui se produit à un rythme jamais connu au préalable, laissant très peu de marge et de possibilités aux organismes vivants (faune et flore) pour s'adapter. Les espèces végétales et animales devront s'adapter aux changements environnementaux en surface et on constate déjà une translation géographique de bon nombre d'espèces pour occuper un secteur climatique correspondant à leurs besoins. Selon le groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat (GIEC), le dérèglement climatique affectera chaque région du globe. Pour la moitié des régions du monde, ce sont minimum 10 caractéristiques qui changeront, parmi lesquelles l'augmentation des températures, la baisse de l'humidité des sols, la survenance de sécheresses et d'épisodes pluvieux extrêmes. Des phénomènes climatiques extrêmes, plus fréquents et plus intenses (sécheresses et inondations) augmenteront la variabilité des précipitations, de l'humidité du sol et des eaux de surface (« Réchauffement climatique », 2022)

L'impact d'un réchauffement sur l'écosystème hypogé est encore peu connu. Les effets déjà visibles en surface restent peu étudiés en milieu souterrain. À moyen et long terme, ces changements climatiques devraient modifier les écosystèmes terrestres profonds (Pipan et al., 2008) et les écosystèmes aquatiques souterrains (Taylor et al., 2013). Ces écosystèmes profonds sont caractérisés par la stabilité de l'environnement. Avec une température basse et stable presque toute l'année (9 à 11 °C en Belgique), les grottes sont des laboratoires intéressants pour le suivi des changements climatiques et leur impact écologique.

Les espèces cavernicoles, étant adaptées à ces environnements stables, avec une saisonnalité limitée, des températures⁹ stables et une

⁹La température d'une grotte correspond à la moyenne de la température extérieure du fait des échanges et du tampon provoqué par l'humidité relative très élevée. La saturation en eau de l'atmosphère est essentielle à la survie de la plupart des organismes terrestres souterrains. La température est également influencée par le couvert végétal de la cavité, la présence d'une importante rivière souterraine et de plusieurs entrées avec des flux d'air.

atmosphère presque saturée en eau avec un taux d'évaporation négligeable, ont perdu les mécanismes physiologiques pour résister aux fluctuations environnementales rapides (Sanchez-Fernandez, 2021). Ces dernières pourraient donc leur être néfastes, voire fatales (Mammola, S. et al., 2019)

Une des modifications évidentes est la hausse des températures. Depuis le début du dérèglement climatique d'origine humaine (1950), on note une hausse dans la température moyenne des grottes. Toutefois, ce processus se fait avec un temps de retard sur les changements en surface. Cet écart a pu être estimé à plus ou moins 20 ans dans certaines études en Slovénie, et est corrélé avec la profondeur de la cavité (Mammola, S. et al., 2019).

L'augmentation de la température, couplée à d'autres facteurs de stress comme la sécheresse et les changements écologiques des écosystèmes de surface (par exemple, la désertification), devrait modifier les régimes hydrologiques. La sécheresse des habitats terrestres en raison des changements environnementaux mondiaux pourrait avoir de graves répercussions négatives sur les communautés souterraines. Selon les cavités,

la faune cavernicole pourrait s'adapter à ce phénomène de hausse de température en se déplaçant dans la grotte (vers des zones plus profondes et plus froides) pour conserver les conditions idéales à leur croissance.

La faculté d'adaptabilité des espèces est reprise par Mammola dans le tableau ci-dessous (Mammola, S. et al., 2019), qui présente, pour différents groupes d'espèces troglobies, l'impact mesuré d'une hausse de température et le potentiel d'adaptation et/ou la mortalité.

Toutefois, d'autres chercheurs considèrent que la plupart des espèces souterraines sont incapables d'échapper aux effets du changement climatique en raison de contraintes géographiques, phénologiques et comportementales. Les écosystèmes souterrains pouvant représenter des pièges sans issue pour leurs habitants (Sanchez-Fernandez, 2021).

De plus, les changements climatiques entraîneront probablement des effets indirects sous terre, comme la colonisation par des espèces exotiques (voir partie sur les espèces invasives), (Wynne et al., 2014) et les variations des apports trophiques externes.

Table 2. A selection of recent experimental studies investigating the response of subterranean organisms to global climate change. Only articles written in English are reported.

Area	Model organism(s)	Ecological classification	Method(s)	Observed/predicted effect(s)	Reference
Europe	Beetles (various genera)	Troglobiont	Indirect evidence extrapolated from species accumulation curves	Expansion of the spatial niche of cave species toward the surface – i.e. into superficial cavities and shallow subterranean habitats	Brandmayr et al. (2013)
Pyrenees (France, Spain)	Beetles (gen. <i>Troglocharinus</i> + outgroups)	Troglobiont	Physiological tests	(1) Most lineages have lost some of the thermoregulatory mechanisms common in temperate insects (2) Broader thermal tolerance than expected by habitat climatic seasonality	Rizzo et al. (2015)
Pyrenees (France, Spain)	Beetles (Tribe Leptodirini)	Troglobiont	(1) Species distribution modeling (2) Molecular data (3) Physiological test	A slight future decline in habitat suitability, but a broad thermal tolerance in most subterranean species	Sánchez-Fernández et al. (2016)
Jura Mountains (France)	Crustacean (gen. <i>Niphargus</i>)	Stygobiont	Expression gene profile	Subterranean species maintain the expression of heat shock protein	Colson-Proch et al. (2010)
Western Alps (Italy)	Spiders (gen. <i>Troglohyphantes</i>)	Troglobiont	Species distribution modeling	(1) Future decline in habitat suitability (2) Potential local extinction in a number of populations	Mammola et al. (2018)
Jura Mountains (France)	Aquatic isopods (gen. <i>Proasellus</i>)	Stygobiont	Physiological test	(1) Some species are sensitive to changes in temperature ($\pm 2^\circ\text{C}$), although one exhibited a higher thermal tolerance breadth (11°C) (2) Extinction risk of groundwater endemics is higher than that of widely distributed species (inferred)	Mermillod-Blondin et al. (2013)
Medio Valdarno porous aquifer (Italy)	Aquatic copepod (<i>Diacyclops belgicus</i> Kiefer)	Stygophile/stygobiont	Physiological test	No significant variations in the oxygen consumptions to a $+3^\circ\text{C}$ change in temperature	Di Lorenzo and Galassi (2017)
Great Britain	Spiders (gen. <i>Meta</i>)	Troglophile	Species distribution modeling	Future poleward shift in the distribution ranges	Mammola (2017)
Europe	Spiders (gen. <i>Meta</i>)	Troglophile	Species distribution modeling	(1) Future poleward shift in the distribution ranges (2) Niche overlap between congeneric species	Mammola and Isaia (2017)

Ainsi, les conditions climatiques extérieures peuvent se détériorer au point que les grottes servent de refuge pour certaines espèces. C'est par exemple le cas de Gelyellidae, un petit crustacé ayant trouvé refuge dans les réseaux karstiques de Suisse lors d'une glaciation (Moeschler & Rouch, 1988).

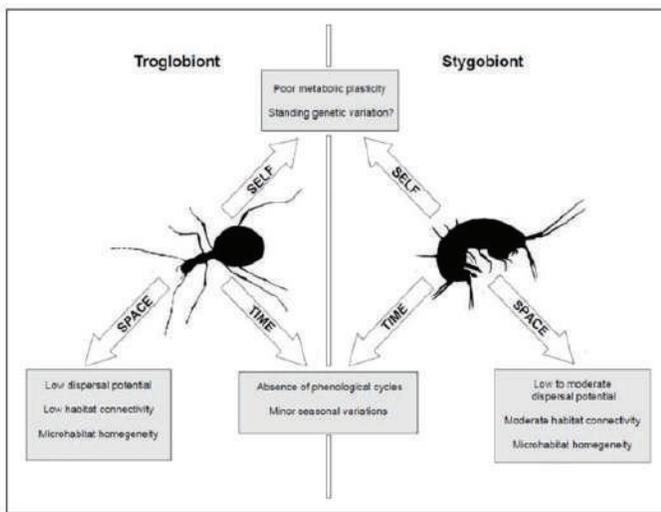
Les changements climatiques évoqués ci-dessus représentent un impact important sur les organismes souterrains en raison de leur vulnérabilité intrinsèque. La limitation de l'aire de répartition de bon nombre d'espèces troglobies et les menaces géographiquement localisées sont beaucoup plus susceptibles d'entraîner une chute de la biodiversité dans les milieux souterrains que dans les écosystèmes de surface, en raison de la perte irréversible d'espèces due à la très faible capacité de déplacement des populations dans une matrice paysagère très morcelée.

Suivre l'évolution du climat dans les cavités et tenter de la corrélérer avec d'éventuelles modifications de la composition faunistique et la biodiversité des cavités constitue une mission importante dans les années à venir pour évaluer l'état de conservation du milieu souterrain.

7 CONCLUSION

Longtemps, les mesures de protection en faveur de la biodiversité des grottes se sont focalisées sur une politique restrictive de l'accès aux sites souterrains, avec placement de grilles ou de portes et une lutte contre la surfréquentation. Si un trop grand nombre de visites dans une cavité peut représenter une source de perturbation / dérangement, notamment pour les chauves-souris en période hivernale, la notion-même de surfréquentation n'est pas clairement établie et il est à ce jour très difficile de corrélérer le nombre de visites et la baisse de la biodiversité.

Les menaces pesant sur la biodiversité des grottes sont loin de se limiter à ce seul problème de fréquentation. Dans une approche plus globale et tenant compte des échanges surface/sous-sol, il faut les évaluer dans l'ensemble du bassin d'alimentation des cavités et travailler à l'échelle d'un massif pour protéger durablement les sites les plus remarquables ou menacés. L'habitat souterrain subit des risques de destruction directe liés en particulier à l'extension des carrières calcaires en Wallonie ou à des travaux d'infrastructure.



Réponse éco-évolutive au changement climatique. Changements potentiels dans la niche thermique d'un troglonite et d'un stygobionte hypothétiques le long de trois axes non exclusifs représentant le temps (ex, phénologie), l'espace (ex, portée) et le soi (ex, physiologie) (Mammola, S. et al., 2019).

La grotte n'est pas un système fermé; son bon état est influencé par les échanges avec la surface et les activités anthropiques (agriculture, industrie, urbanisation, rejets d'eaux usées) pouvant modifier la qualité des eaux ou constituer une source de pollution. Ces impacts plus diffus sont pour certains difficiles à déterminer et encore plus compliqués à gérer. Idéalement, les mesures de conservation doivent être intégrées à l'aménagement et à la gestion des territoires. La protection des masses d'eaux souterraines, définie autour des captages (l'eau potable étant une ressource stratégique), offre une approche et une protection intéressantes pour les cavités se situant à proximité. Les mesures de protection mises en place peuvent avoir des effets très favorables sur la protection des écosystèmes souterrains et la lutte contre les pollutions concentrées ou diffuses.

Comme tout autre habitat, le milieu souterrain n'échappe pas aujourd'hui à l'incidence d'espèces invasives qui viennent concurrencer les taxons troglobies, ni aux conséquences du rapide changement climatique. Bien que l'on puisse s'attendre à un décalage dans la hausse des températures souterraines par rapport aux écosystèmes de surface adjacents, les changements climatiques devraient modifier les conditions dont ces espèces sensibles dépendent actuellement (Sanchez-Fernandez, 2021). Une meilleure connaissance de la dépendance des espèces troglobies à une température stable, est un prérequis aux mesures et politiques de conservation.

Enfin, la biodiversité du milieu souterrain reste très mal connue et peu documentée en Wallonie¹⁰. Ce manque de connaissances est un frein important à la mise en place d'une politique de conservation cohérente et à la définition de priorités en termes d'espèces et de zones à protéger. Sans un état des lieux plus complet, il est impossible de pouvoir évaluer le bon état écologique du milieu souterrain et son évolution dans le temps. Ainsi, dès 1999, Dethier et Hubart qui se sont intéressés à l'évolution de la faune cavernicole de Wallonie concluaient : *"Il n'est pas toujours possible de savoir si le recul de la biodiversité de la faune troglobie qui semble s'observer en Belgique est le résultat d'agressions subies par le milieu karstique ou à un manque de données récentes"* (Hubart, J-M. & Dethier, M., 1999).

¹⁰Seule une 30aine de grottes ont fait l'objet au cours de 90 dernières années d'au moins trois campagnes d'échantillonnage de la faune invertébrée... et dans la grande majorité des cavités, AUCUNE donnée n'existe concernant cette faune particulière.

BIBLIOGRAPHIE

PARTIE 01

Dud, L., 2021. Methods of reporting on the Article 17 of the habitats Directive for caves not open to public.

Erhard, M., 2021. Reporting data on European level.

European Commission, 2013. Interpretation Manual of European Union Habitats EUR28.

Köble, H., 2021. Monitoring of Caves according 92/43/EEC Habitats directive in Baden-Württemberg, Germany.

Lankester, M.-C., 2021. Contribution de la directive Habitats-Faune-Flore à la conservation des grottes et cavités naturelles en France.

Ozols, D., 2021. Sandstone Caves in Latvia.

Ssymank, A., 2021. Natura 2000 evaluation of data on national level (Germany).

Weigand, A., 2021. DNA-based identification of cave invertebrates.

Weigand, A., Bücs, S.-L., Deleva, S., Lukić Bilela, L., Nyssen, P., Paragamian, K., Ssymank, A., Weigand, H., Zakšek, V., Zigmajster, M., Balázs, G., Barjadze, S., Bürger, K., Burn, W., Cailhol, D., Decrolière, A., Didonna, F., Doli, A., Dražina, T., Thies, 2022. Current cave monitoring practices, their variation and recommendations for future improvement in Europe: A synopsis from the 6 EuroSpeleo Protection Symposium.

PARTIE 02

Bilela, L. 2021. Natura 2000 with focus on Habitat 8310 in Bosnia and Herzegovina. Présenté à 6th EuroSpeleo Protection Symposium - Assessing, monitoring and protecting cave biotopes and geotopes through Natura 2000 or similar programs in Europe, Vilm Germany, 28 octobre 2021.

Botosaneanu, L., 1986. Stygofauna Mundi: a faunistic, distributional, and ecological synthesis of the world fauna inhabiting subterranean waters (including the marine interstitial). E. J. Brill/Backhuys, Leiden. 1545 pp.

Christman, M., Culver, D., 2001. The relationship between cave biodiversity and available habitat. *Journal of Biogeography*.

Culver, D. C., Pipan, T., 2008. Superficial subterranean habitats - gateway to the subterranean realm? *Cave and karst Science* vol 35 (1-2) : 5-12

Culver, C., Sket, B., 2000. Hotspots of Subterranean Biodiversity in Caves and Wells. *Journal of Cave and Karst Studies*, 62(1):11-17.

De Broyer, C., Michel, G., 1998. Critères de sélection des cavités souterraines d'intérêt scientifique (proposition CWEPS). Document de travail au profit du SPW-DNF proposant une évaluation de l'intérêt biologique. 4 pp.

De Broyer, C., 1995. . Underground animal habitats: Progress towards integrated

conservation. *Environmental Conservation*, 21: 357-359.

Dethier, M., Willems, L., 2005. Les invertébrés des carrières souterraines de craie de la Montagne Saint-Pierre (Province de Liège, Belgique). Note préliminaire. *Notes fauniques de Gembloux* 17-27.

Dethier, M., 2016. La faune invertébrée de la galerie minière de la Chartreuse et de quelques autres cavités souterraines artificielles de Wallonie ». *Bulletin des Chercheurs de la Wallonie*, no 52 : 105-36.

Dethier, M., Rochez, G., 2022. *Biospéologie, initiation à l'étude de la faune cavernicole de Belgique*, Masepas. ed.

Dražina, T., 2021. Developing monitoring methodology for caves and cave invertebrates in Croatia. Présenté à 6th EuroSpeleo Protection Symposium - Assessing, monitoring and protecting cave biotopes and geotopes through Natura 2000 or similar programs in Europe, Vilm Germany, 27 octobre 2021.

Dubois, Y., 2003. Grotte de Hotton, coupe et topographie avec réseau post-siphon. *Lévé 1998-1999*. Publication Spéléo Club de Belgique

Ek, C., 1970. Carte géologique de la grotte de Remouchamps, notice explicative. *Annales de la Société Géologique de Belgique*. 93: 287-292.

- European Commission, 2013. Interpretation Manual of European Union Habitats EUR28.
- Gibert, J., Deharveng, L., 2002. Subterranean ecosystems: A truncated functional biodiversity. *Bioscience*, 52 (6): 473-481.
- Ginet, R., Juberthie, C., 1988. Le peuplement animal des karsts de France (deuxième partie : éléments de biogéographie pour les Invertébrés terrestres). *Krastologia* 61-71.
- Hendrickx, S., Gathoye, J.-L., Delescaille, L.-M., Wibail, L., 2021. Les habitats rocheux, les buxais et les cavités souterraines, in: *Les Habitats d'Intérêt Communautaire de Wallonie, Série "Faune-Flore-Habitats."* Service Public de Wallonie, p. 92.
- Hubart, J.-M., 2001. Les cavernicoles et l'argile. Informations à l'intention des spéléologues. Actes des Journées de Spéléologie Scientifique. Han-sur-Lesse 1997 à 2000. Geological Survey of Belgium Professional Paper, no 295 (2001): 46-50.
- Hubart, J.-M., Dethier, M., 1999. La faune troglobie de Belgique : état actuel des connaissances et perspectives. *Bulletin SRBE*, no 13: 164-78.
- Juberthie, C., 1995. Les habitats souterrains et leur protection. *Conseil de l'Europe - Sauvegarde de la Nature*. 72 : 1-100.
- Lamotte, S., 2007. Les chauves-souris dans les milieux souterrains protégés en Wallonie. État des populations, répartition et gîtes d'hivernage. Région wallonne, Direction Générale des Ressources Naturelles et de l'Environnement, Division de la Nature et des Forêts, Travaux n° 29, 272 pp.
- Lankester, M., 2021. Contribution de la directive Habitats-Faune-Flore à la conservation des grottes et cavités naturelles en France.
- Lunghi, E., Manenti, R., 2017. Caves features, seasonality and subterranean distribution of non-obligate cave dwellers. *PeerJ* 20 pp.
- Maciejewski, L., 2016. État de conservation des habitats : propositions de définitions et de concepts pour l'évaluation à l'échelle d'un site Natura 2000. *Revue d'Ecologie (Terre et Vie)* 71, no 1 (2016): 3-20.
- Malard, F., 2002. Sampling Manual for the Assessment of Regional Groundwater Biodiversity, UMR CNRS 5023
- Mammola, S., Giachino, P.M., Piano, E., Jones, A., Barberis, M., Badino, G., Isaia, M., 2016. Ecology and sampling techniques of an understudied subterranean habitat: the Milieu Souterrain Superficiel (MSS). *Naturwissenschaften*. 103(11-12)
- Martin, P., De Broyer, C. Fiers, F., Michel, G., Sablon, R., Wouters, K., 2004. Biodiversity of Belgian groundwaters: the Meuse Basin. Symposium on World Subterranean Biodiversity. Lyon, December 2004.
- Ravn, R., 2020. Decomposition of Organic Matter in Caves. *Frontiers in Ecology and Evolution*. 8: 12 pp.
- Rochez, G., Dethier, M., 2005. La galerie minière de la Chartreuse à Liège (Belgique) : un « cas d'école ». *Notes fauniques de Gembloux n°57*: 81-86.
- Service public de Wallonie (SPW) - Atlas du karst wallon - Série (2025-01-16) <http://geodata.wallonie.be/id/a5577b78-a388-48e7-86f9-c3138d562270>
- Tercafs, R., 1989. Relation entre la densité de population de *Triphosa dubitata* L. (Lépidoptère troglodène) et la surface des entrées des grottes. *Bulletin de liaison de la Société de Biospéologie* 14.
- Zaenker, S., 2021. Introduction to CaveLife-App. Présenté à 6th EuroSpeleo Protection Symposium - Assessing, monitoring and protecting cave biotopes and geotopes through Natura 2000 or similar programs in Europe, Vilm Germany, 28 octobre 2021.

PARTIE 03

AFCN 2011. Du radon dans votre maison. Vous pouvez vous protéger. Brochure de l'Agence Fédérale de Contrôle Nucléaire, 12 pp.

Anderson, J. 2021. Exposure to radon and Progeny in a Tourist Cavern. *Health Phys*, 120 (6) : 628-634.

APW 2015. Monoxyde de Carbone. Dépliant de présentation, 8 pp.

Băncilă, R.I., Pradel, R., Choquet, R., Plăiașu, R. and Gimenez, O. 2018. Using temporary emigration to inform movement behaviour of cave-dwelling invertebrates: a case study of a cave harvestman species. *Ecol Entomol*, 43: 551-559

- Barriquand L. et al. 2021. Biofilms et grottes, un monde méconnu et de nombreuses perspectives de recherches. Poster au Colloque "Bioadhésion et biocontamination des surfaces", Lyon, mars 2021.
- Bishop, R. 2004. Life in the hypoxic and anoxic zones: metabolism and proximate composition of Caribbean troglobitic crustaceans with observations on the water chemistry of two anchialine caves. *Journal of Crustacean Biology*, 24 (3): 379-392.
- Breecker, D. 2012. The sources and sinks of CO₂ in caves under mixed woodland and grassland vegetation. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 96: 230-246
- Burlet, C. 2015. Niphargus: A silicon band-gap sensor temperature logger for high-precision environmental monitoring. *Computers & Geosciences* 74: 50-59.
- Cao, M. 2021. Rainfall-driven and hydrologically-controlled variations in cave CO₂ sources and dynamics: Evidence from monitoring soil CO₂, stream flow and cave CO₂. *Journal of Hydrology*, 595: 9 pp.
- Chauveau 2021. Le Tunnel de Gordaville (Seneffe). Site historique remarquable et laboratoire fascinant. *Ecokarst*, 121: 13-16.
- Cigna, A. 2002. Monitoring of caves. Conclusions and Recommendations. *Acta Carsologica* 31 (1): 4 pp
- Cigna, A. 2005. Radon in Caves. *International Journal of Speleology*, 34 (1-2): 1-18.
- Colado, R. 2021. Thermal tolerance and vulnerability to climate change in subterranean species: a case study using an Iberian endemic pseudoscorpion. *Insect Conservation and Diversity* 15 (2): 181-190.
- Daniel, A. & Le Goff, R. 2002. Evaluation de l'état d'eutrophisation des eaux côtières et estuariennes de Basse Normandie. Ifremer - rapport RST. DEL, 72 pp.
- De Broyer, C. 1995. Vers la conservation intégrée des habitats souterrains. *Naturopa, nouvelles de l'environnement. Conseil de l'Europe*, 94 (5): 1-4.
- De Broyer, C. et al. 2005. T1 - Action Plan for Conservation of Groundwater Biodiversity. Fifth EU FP: Global Change, Climate and Biodiversity
- ER - Delhez, F. 1971. La teneur en CO₂ dans les biotopes des divers arthropodes troglobies terrestres de la faune belge. 2 : Les habitats des araignées cavernicoles. *Electron* 1: 39-47.
- Demièrre, J. 2006. Monoxyde de carbone et minages en spéléologie. Tech Tonique, Suisse,
- Dethier, M. & Briffoz A. 2008. Pullulation et hécatombe de moustiques. *Eco Karst* 74: 8-10.
- Di Lorenzo, T. 2020. The impact of nitrate on the groundwater assemblages of European unconsolidated aquifers is likely less severe than expected. *Environmental Science and Pollution Research* 28: 11518-11527.
- Ek, C. 2020. Forte augmentation du CO₂ de l'air des grottes de Wallonie. Variations saisonnières, flux, évolution. *Bulletin de la Société Géologique de Liège* 74: 79-109.
- Ek, C. & Godissart J. 2009. Extreme increase of CO₂ in Belgian caves. *International Congress of Speleology*, 15: 1467-1473.
- Ek, C. & Godissart J. 2014. Carbon dioxide in cave air and soil air in some karstic areas of Belgium. A prospective view. *Geologica Belgica* 17 (1): 102-106.
- Fakher el Abiari A. et al. 1998. Etude expérimentale de la sensibilité comparée de trois crustacés stygobies vis-à-vis de diverses substances toxiques pouvant se rencontrer dans les eaux souterraines. *Mém. Biospéol.* 25: 167-181.
- France Nature Environnement 2012. Les nitrates dans les milieux aquatiques et leurs conséquences. Fiche Thématique 6 - Qualité des eaux, 4 pp.
- Freitas, C. de 2010. The role and importance of cave microclimate in the sustainable use and management of show caves. *Acta Carsologica* 39 (3): 477-489.
- Frick & Puechmaille, 2016. White Nose Syndrome in Bats. In *Bats in the Anthropocene: Conservation of bats in a changing world*. Chap 9. 245-262. Springer
- Gustavson, K. et al. 2000. Groundwater Toxicity Assessment Using Bioassay, Chemical, and Toxicity

- Identification Evaluation Analyses. Environmental Toxicology 15: 421-430.
- Hahn H.J., Berkhoff S., Bork J. 2007. Assessing surface water impact on groundwater using invertebrate fauna and the GW-Fauna-Index as indicators. International Association of Hydrogeologists: International Groundwater Conference XXXV: "Groundwater and Ecosystems" (Lissabon, 16-21.09.2007).
- Hervant, F. & Malard F. 2012. Responses to Low oxygen. Encyclopedia of Caves : 651-658.
- Hickey, C.W. & Martin M.L. 2009. A review of nitrate toxicity to freshwater aquatic species. National Institute of Water & Atmospheric Research - Environment Canterbury, Report N° R09/57 ISBN 978-1-86937-997-1, 56 pp.
- Hose, G. 2005. Assessing the need for groundwater quality guidelines for pesticides using the species sensitivity distribution approach. Human and Ecological Risk Assessment 13: 236-240.
- Hoyos, M. 1998. Microclimatic characterization of a karstic cave: human impact on microenvironmental parameters of a prehistoric rock art cave (Candamo Cave, northern Spain). Environmental Geology 33 (4): 231-242
- Hubart, J.M. 2003. La grotte Nicole (Province de Liège, Belgique). Bulletin des Chercheurs de la Wallonie 42: 97-110.
- Jones, J. 2013. The 'why', 'what' and 'how' of monitoring for conservation. In: Key Topics in Conservation Biology, Wiley & Blackwell chap. 18 : 329-343.
- Kefford, B. 1998. The relationship between electrical conductivity and selected macroinvertebrate communities in four river systems of south-west Victoria, Australia. International Journal of Salt Lake Research 7:153-170.
- Kokalj, J. et al. 2022. Screening of NaCl salinity sensitivity across eight species of the subterranean amphipod genus *Niphargus*. Ecotoxicology and Environmental Safety Vol 236: 10 pp.
- Kukuljan, L. 2021. CO2 dynamics and heterogeneity in a cave atmosphere: role of ventilation patterns and airflow pathways. Theoretical and Applied Climatology 146: 91-109.
- Lequien, A. 2019. Guide d'évaluation de l'état des eaux souterraines - Juillet 2019. Ministère français de la Transition Ecologique. Groupe de Travail Eaux Souterraines, 72 pp.
- Lismonde, B. 2002. Aérologie des systèmes karstiques. In : Climatologie du Monde souterrain 2: 362 pp. Comité Départemental de Spéléologie de l'Isère.
- Lopez, B. 2009. Les processus de transfert d'eau et de dioxyde de carbone dans l'épikarst. Thèse de doctorat, Université de Bordeaux, 399 pp.
- Luighi, E. & Manenti R. 2017. Caves features, seasonality and subterranean distribution of non-obligate cave dwellers. PeerJ. 20 pp.
- Maazouzi, C. et al. 2016. Individual and joint toxicity of the herbicide S-metolachlor and metabolite, diethylatrazine on aquatic crustaceans: Difference between ecological groups. Chemosphere 165: 118-125.
- Maciejewski, L. 2016. Etat de conservation des habitats: propositions de définitions et de concepts pour l'évaluation à l'échelle d'un site Natura 2000. Terre et Vie, Revue d'Ecologie 71 (1): 3-20.
- Malard, Florian & Dole-Olivier, Marie-José & Mathieu, J & Stoch, Fabio. (2002). Sampling Manual for the Assessment of Regional Groundwater Biodiversity. European Project PASCALIS. 1-74.
- Mammola, S., Piano, E, Cardoso, P., Vernon, P., David Domínguez-Villar, Culver, D., Pipan, T, et Isaia, M. 2019. Climate Change Going Deep: The Effects of Global Climatic Alterations on Cave Ecosystems. The Anthropocene Review 6 (1 2): 98-116. <https://doi.org/10.1080/20918016.2019.1644444>

PARTIE 04

Bensettiti F., Puissauve R., Lepareur F., Tourout J. et Maciejewski L., 2012. Evaluation de l'état de conservation des habitats et des espèces d'intérêt communautaire – Guide méthodologique – DHFF article 17, 2007-2012. Version 1 – Février 2012. Rapport SPN 2012-27, Service du patrimoine naturel, Muséum national d'histoire naturelle, Paris, 76 p. + annexes.

Bichuette, M.E., Simões, L., Von Schimonsky, D., Gallão, J. 2015. Effectiveness of quadrat

- sampling on terrestrial cave fauna survey - A case study in a Neotropical cave. *Acta Scientiarum Biological Sciences* 37, 345–351.
- Boulton, A., 2023. Recent concepts and approaches for conserving groundwater biodiversity, in: *Groundwater Ecology and Evolution*. Elsevier, p. Chap 23: 525-550.
- Brancelj, A. 2004. Biological sampling methods for epikarst. in Jones, W.K., Culver, D.C., Herman, J.S., Karst Waters Institute (Eds.), 2004. *Epikarst: proceedings of the symposium held October 1 through 4, 2003 Shepherdstown, West Virginia*, Special publication. Karst Waters Institute, Charles Town, W. Va.
- Dethier, M., Rochez, G. 2022. *Biospéologie, initiation à l'étude de la faune cavernicole de Belgique*. Masepas.
- Dole-Olivier, M.-J., Castellarini, F., Coineau, N., Galassi, D.M.P., Martin, P., Mori, N., Valdecasas, A., Gibert, J. 2009. Towards an optimal sampling strategy to assess groundwater biodiversity: comparison across six European regions. *Freshwater Biology* 54, 777–796.
- Ducarme, X., 2004. Survey of mites in caves and deep soil and evolution of mites in these habitats. *Canadian journal of Zoology* 8: 841-850.
- Hunt, M., Millar, I. 2001. *Cave invertebrate collecting guide*, Department of Conservation technical series. Dept. of Conservation, Wellington, N.Z.
- Lankester, M.-C., 2021. Contribution de la directive Habitats-Faune-Flore à la conservation des grottes et cavités naturelles en France.
- Leruth, R., 1939. *La biologie du domaine souterrain et la faune cavernicole de la Belgique*. Musée royal d'histoire naturelle de Belgique, Bruxelles, Belgique.
- Maciejewski, L., 2016. Etat de conservation des habitats: propositions de définitions et de concepts pour l'évaluation à l'échelle d'un site Natura 2000. *Revue d'Ecologie (Terre et Vie)* 71, 3–20.
- Malard, F., 2002. *Sampling Manual for the Assessment of Regional Groundwater Biodiversity*, European Project: Protocols for the Assessment and Conservation of Aquatic Life In the Subsurface, 111 pp.
- Mazza, G. 2014. A new threat to Groundwater ecosystems: First occurrences of the invasive crayfish *Procambarus Clarkii* (Girard, 1852) in European caves. *Journal of Cave and Karst Studies* 62–65.
- Michel, G., Rigali, S., 2023. *Concrétions "guérisseuses" - Vertus antibiotiques de certaines substances présentes dans le Moonmilk*. *Eco Karst* 132 : 1–4.
- Nyssen, P., Godeau, J.-F., Goffioul, N., Haesen, L., Michel, G., 2024. Evaluation de l'état de conservation de l'habitat souterrain : plus facile à dire qu'à faire! *Eco Karst* 135:10–15.
- Sacco, M. 2022. eDNA in subterranean ecosystems: applications, technical aspects and future prospects. *Science of the Total Environment* 820: 14 pp.
- Sanchez-Fernandez, D., 2021. Don't forget subterranean ecosystems in climate change agendas. *Nature Climate Change* 11, 458–459.
- Weber, D., Stoch, F., Knight, L., Chauveau, C., Flot, J-F., 2021. The genus *Microniphargus* (Crustacea, Amphipoda): evidence for three lineages distributed across northwestern Europe and transfer from Niphargidae to Pseudoniphargidae. *Belg. J. Zool.* 151, 169–191.
- Weber, D., Flot, J.-F., Frantz, A.C., Weigand, A.M., 2022. Molecular analyses of groundwater amphipods (Crustacea: Niphargidae) from Luxembourg: new species reveal limitations of morphology-based checklists. *Zootaxa* 5222, 501–533.
- West, K. 2020. Under the karst: detecting hidden subterranean assemblages using eDNA metabarcoding in the caves of Christmas Island, Australia. *Nature research scientific reports*: 15 pp.
- Wynne, J., Howarth, F., Sommer, S., Dickson, B. 2019. Fifty years of cave arthropod sampling: techniques and best practices. *IJS* 48, 33–48.
- Wynne, J., Sommer, S., Howarth, F.G., Dickson, B., Voyles, K.D. 2018. Capturing arthropod diversity in complex cave systems. *Divers Distrib* 24, 1478–1491.
- Zaenker, S., Bogon, K., Weigand Alexander, 2020. *Die Hölentiere Deutschlands : finden, erkennen, bestimmen*. Institut royale des Sciences naturelles de Belgique.

PARTIE 05

- Aureli, A. (2010). The UNESCO IHP's Shared Aquifer Resources Management Global Project. 6.
- Badescu, B. (2009). Good practice guide for terrain administrators of land situate in karst areas. REPA.
- Cigna, A. (2002). Monitoring of caves. Conclusions and Recommendations. *Acta carsologica*, 31/1.
- Constantin, S. (2021). Monitoring Human Impact in Show Caves. A Study of Four Romanian Caves. *Sustainability*, 13: 26 pp.
- de Freitas, C. (2010). The role and importance of cave microclimate in the sustainable use and management of Show caves. *Acta carstologica*, 39/3: 477-489.
- Dethier, M. & Dumoulin, C. (2004). Estimation de la dérive faunique dans le milieu souterrain. Exemple de la grotte Monceau à Tilff.
- Dethier, M. & Hubart, J-M. (2010). Evolution de la faune invertébrée des grottes de Ramioul (commune de Flémalle, province de Liège, Belgique). *Bulletin des Chercheurs de la Wallonie*, HS 3, 15-44.
- Goldscheider, N. (2005). Karst groundwater vulnerability mapping: Application of a new method in the Swabian Alb, Germany. *Hydrogeology Journal*, 13(4), 555-564. <https://doi.org/10.1007/s10040-003-0291-3>
- Goldscheider, N. (2012). A holistic approach to groundwater protection and ecosystem services in karst terrains. *AQUA mundi*, 117-124.
- Hubart, J-M. (2001). Les cavernicoles et l'argile. Informations à l'intention des spéléologues. Actes des Journées de Spéléologie Scientifique. Han-sur-Lesse 1997 à 2000. Geological Survey of Belgium Professional Paper, 295, 46-50.
- Hubart, J-M. & Dethier, M. (1999). La faune troglobie de Belgique : État actuel des connaissances et perspectives. *Bulletin SRBE*, 135, 164-178.
- Luetscher, M. (2021). Über den Einfluss des Klimas auf Höhlen und Karst – eine speläologische Perspektive. L'impact climatique sur les grottes et le karst perspectives de spéléologues. *Stalactite*, 1, 8.
- Maazouzi, C. (2016). Individual and joint toxicity of the herbicide S-metolachlor and a metabolite, deethylatrazine on aquatic crustaceans : Difference between ecological groups. *Chemosphere*, 165, 118-125.
- Mammola, S., Piano, E, Cardoso, P., Vernon, P., David Domínguez-Villar, Culver, D., Pipan, T, & Isaia, M. (2019). Climate change going deep : The effects of global climatic alterations on cave ecosystems. *The Anthropocene Review*, 6(1-2), 98-116. <https://doi.org/10.1177/2053019619851594>
- Manenti, R. (2021). Conservation Studies on Groundwaters' Pollution : Challenges and Perspectives for Stygofauna Communities. *Sustainability*, 13, 12 pp.
- Martin, P., De Broyer, C., Fiers, F., Michel, G., Sablon, R., & Wouters, K. (2009). Biodiversity of Belgian groundwater fauna in relation to environmental conditions. *Freshwater Biology*, 54(4), 814-829. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2008.01993.x>
- Moeschler, P., & Rouch, R. (1988). Découverte d'un nouveau représentant de la famille des Gelyellidae (Copepoda, Harpacticoida) dans les eaux souterraines de Suisse. *Crustaceana*, 55(1), 1-16. JSTOR.
- Pacheco, G. (2020). Tourism effects on the subterranean fauna in a Central American cave. *Insect conservation and Diversity*, 13 pp.
- Pipan, T., Navodnik, V., Janžekovič, F., & Novak, T. (2008). Studies of the Fauna of Percolation Water of Huda Luknja, a Cave in Isolated Karst in Northeast Slovenia. *Acta Carsologica*, 37(1). <https://doi.org/10.3986/ac.v37i1.166>
- Réchauffement climatique : 5 cartes pour visualiser ce qui nous attend. (2022, mars 1). *Les Echos Planète*. <https://planete.lesechos.fr/enquetes/rechauffement-climatique-5-cartes-pour-visualiser-ce-qui-nous-attend-13038/>
- Rouelle, A. (2014). Qualité de l'eau destinée à la consommation humaine. *Eaux distribuées dans la période 2010-2012* (p. 108 pp). SPW - DG03.
- Sanchez-Fernandez, D. (2021). Don't forget subterranean ecosystems in climate change agendas. *Nature Climate Change*, 11, 458-459.

- Taylor, R. G., Scanlon, B., Döll, P., Rodell, M., van Beek, R., Wada, Y., Longuevergne, L., Leblanc, M., Famiglietti, J. S., Edmunds, M., Konikow, L., Green, T. R., Chen, J., Taniguchi, M., Bierkens, M. F. P., MacDonald, A., Fan, Y., Maxwell, R. M., Yecheili, Y., ... Treidel, H. (2013). Ground water and climate change. *Nature Climate Change*, 3(4), 322-329. <https://doi.org/10.1038/nclimate1744>
- Tercafs, R. (1991). Bilan et perspectives de la protection des habitats souterrains et des espèces cavernicoles de Belgique. *Bulletin des Chercheurs de la Wallonie*, 31, 139-150.
- Wynne, J. J., Bernard, E. C., Howarth, F. G., Sommer, S., Soto-Adames, F. N., Taiti, S., Mockford, E. L., Horrocks, M., Pakarati, L., & Pakarati-Hotus, V. (2014). Disturbance Relicts in a Rapidly Changing World : The Rapa Nui (Easter Island) Factor. *BioScience*, 64(8), 711-718. <https://doi.org/10.1093/biosci/biu090> <https://doi.org/10.1177/2053019619851594>.
- Mammola, S. 2019. Finding answers in the dark: caves as models in ecology, fifty years after Poulson and White. *Ecography* 42: 1331-1351.
- Manenti, R. et al. 2021. Conservation Studies on Groundwaters' Pollution : Challenges and Perspectives for Stygofauna Communities. *Sustainability* 13: 12 pp.
- Margineanu, R. 2019. Radon measurements in underground mines and caves from several European countries. AIP Conference Proceedings.
- Published online 2019: 10 pp.
- Miljojkovic, D. et al. 2019. Assessment of physical and chemical indicators on water turbidity. *Physica A* 527: 1-4.
- Moroni, M. 2013. Radon and Carbon Dioxide Monitoring as approach to Touristic Exploitation of Caves. 5ème Colloque national du Patrimoine Géologique - Tunis, 2013, 11 pp.
- Mösslacher F. 2000. Sensitivity of groundwater and surface water crustaceans to chemical pollutants and hypoxia implications for pollution management. *Archiv für Hydrobiologie* 149 (1) : 51-66.
- Nicolas V., Chocat, B. et al. 2013. Ingénierie écologique appliquée aux milieux aquatiques. Pourquoi? Comment? ASTEE, 357 pp.
- Paul, C. & Puls R. 1997. Impact of Turbidity on TCE and Degradation in Ground Water. *Wiley InterScience*, Silver Spring 17 (1): 128-133.
- Piron, J., Ek, C., & Willems, L. 2007. Contribution à l'étude du climat de trois cavités souterraines belges : Ramioul, abîme de Comblain-au-Pont et la carrière souterraine de Petit-Lanay inférieure ». *Bulletin des Chercheurs de la Wallonie* 46: 155 169.
- Pronk, M. et al. 2006. Dynamics and interaction of organic carbon, turbidity and bacteria in a karst aquifer system. *Hydrogeology Journal* 14: 473-484.
- Ravn, R. 2020. Decomposition of Organic Matter in Caves. *Frontiers in Ecology and Evolution* 8: 12 pp.
- Roba, G. 2021. Le radon dans les grottes (1ère partie) ». *Eco Karst* 125: 14-16.
- Rolhi, R. & Vega A. 2018. Atmospheric Structure and Composition. In: Jones & Bartlett : Climatology, 4th ed., pp? 10 pp.
- Rouelle, A. et al. 2012. Qualité de l'eau destinée à la consommation humaine. *Eaux distribuées dans la période 2010-2012. SPW-DGARNE – Direction des eaux souterraines* 109 pp.
- Sainz, C. 2022. Use of radon and CO2 for the Identification and Analysis of Short-Term Fluctuations in the Ventilation of the Polychrome Room Inside the Altamira Cave. *International Journal of Environment Research and Public Health* 19: 11 pp.
- Sanchez-Fernandez, D. 2021. Don't forget subterranean ecosystems in climate change agendas. *Nature Climate Change* 11: 458 459.
- Sebela, S. 2019. Cave Temperature and Management Implications in Lehman Caves, Great Basin National Park, USA». *Geoheritage* 11: 1163 1175.
- Silviu, C. 2021. Monitoring Human Impact in Show Caves. A Study of Four Romanian Caves. *Sustainability*, 13: 26 pp.

Smith, G. 1999. Foul air in limestone caves and its effect on cavers. Proceedings of the Conference of the Australian Speleological Federation 22: 48-58.

Thulin, B. & Innova, G. 2008. Ecology and living conditions of groundwater fauna. Swedish

Nuclear Fuel and Waste Management Co. Technical Report TR-08-06, 47 pp.

Vanden Broeck E., Martel E.A. & Rahir, E. 1910. Les Cavernes et les Rivières souterraines de la Belgique. Bruxelles, Lamertin. 2 vol., 1841 p, 26 pls, 435 figs.

Waring, C. 2021. Cave radon exposure, does dynamics and mitigation. Journal of Cave and Karst Studies (1): 1-19.