



HAL
open science

Indicateurs du fonctionnement trophique des cours d'eaux

Nicolas Hette-Tronquart, Jérôme Belliard

► **To cite this version:**

Nicolas Hette-Tronquart, Jérôme Belliard. Indicateurs du fonctionnement trophique des cours d'eaux. Irstea; AFB - Agence française pour la biodiversité. 2018. hal-04184177

HAL Id: hal-04184177

<https://hal.inrae.fr/hal-04184177v1>

Submitted on 21 Aug 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Copyright



Indicateurs du fonctionnement trophique des cours d'eaux

Approche par l'analyse des isotopes stables

Rapport final

**Nicolas Hette-Tronquart (Irstea)
Jérôme Belliard (Irstea)**

Février 2018

Document élaboré dans le cadre du : développement d'indicateurs fonctionnels

- **AUTEURS**

Nicolas HETTE-TRONQUART, ingénieur de recherche contractuel (Irstea), nicolas.hette@edu.mnhn.fr

Jérôme BELLIARD, ingénieur de recherche (Irstea), jerome.belliard@irstea.fr

- **CORRESPONDANTS**

AFB : Yorick REYJOL, Coordinateur de la mission « Bioindication et fonctionnement des écosystèmes aquatiques » (AFB), yorick.reyjol@afbiodiversite.fr

- **AUTRES CONTRIBUTEURS**

Mathieu GIRONDIN, assistant ingénieur (Irstea), mathieu.girondin@irstea.fr

Estelle DALLASERRA, Amel HARZALLAH, Alexia MONSAVOIR, Victor MOUGIN, Kévin PIORKOWSKI, stagiaires (Irstea)

Délégations interrégionales et services départementaux associés de l'AFB.

Droits d'usage : accès libre

Niveau géographique : mondial

Couverture géographique : France

Niveau de lecture : professionnels, experts



- **RESUME**

Pour mieux prendre en compte les aspects fonctionnels de l'écosystème lors de l'évaluation de son état écologique, de nouveaux bioindicateurs semblent nécessaires. La diversité trophique pourrait servir de base au développement de tels indicateurs car elle intègre à la fois les dimensions structurelle et fonctionnelle de l'écosystème. L'action 20 a ainsi poursuivi la réflexion entamée par les travaux de l'action 33. Durant cette action, l'accent a été mis sur le transfert et la valorisation des données dont l'acquisition avait débuté lors de l'action précédente. En particulier, une base de données isotopiques concernant la diversité trophique a été construite. Ce rapport final fait le bilan de l'action 20 et plus globalement de l'ensemble du projet initié par l'action 33 à partir de 2013. Nous rappelons l'objectif et les problématiques étudiées, ainsi que l'approche adoptée par le projet. Puis, nous faisons le bilan des activités et proposons une synthèse des résultats obtenus. Au terme du projet, il n'est pas encore possible d'affirmer que la diversité trophique pourra être le support d'un futur indicateur plus fonctionnel de l'état écologique des cours d'eau. Cependant, les résultats obtenus étaient des étapes indispensables à valider, qui constituent maintenant des jalons sur lesquels de futures réflexions pourront s'appuyer.



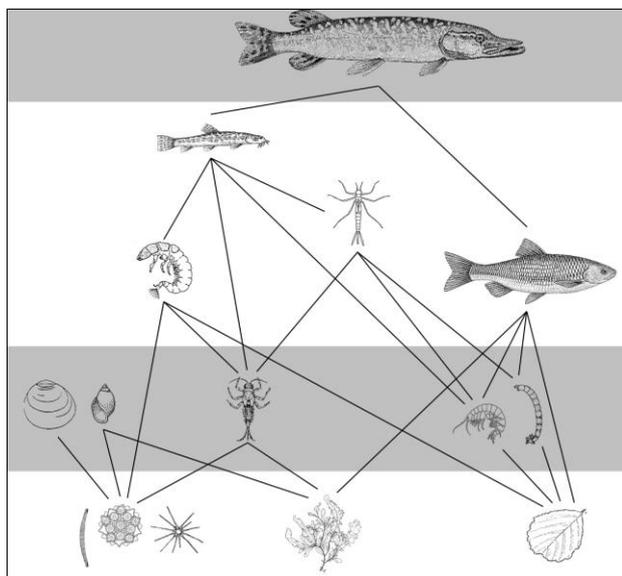
- **FUNCTIONAL INDICATORS OF STREAMS, BASED ON FOOD WEBS**
- **ABSTRACT**

In order to assess the ecological status of ecosystems it is necessary to include their functional features into the evaluation process. Currently, the available bioindicators do not fully meet this objective and new indicators are needed. One way of developing such indicators could be to use trophic diversity, as it integrates both structural and functional features of the ecosystem. Following the previous work initiated by the project 33, the project 20 was the occasion to carry on the study about trophic diversity. During this project, we dedicated most of our efforts to knowledge dissemination and to the creation of an isotopic database that is dedicated to trophic diversity. This final report presents the work that was conducted during the project 20, but more generally during the whole project initiated by the first project 33 in 2013. We remind the aim and the 3 topics examined during the project, as well as the approach adopted for the project. Then, we listed the different activities that we realised during the project 20 and presented the most important results of both projects 33 and 20. At the end of the project, it is not yet possible to determine whether trophic diversity could be used to develop new indicators that better include functional features of ecosystems. However, the obtained results were essential steps that now are milestones for future works on the subject.

- **SYNTHÈSE POUR L'ACTION OPERATIONNELLE**

Contexte Le fonctionnement biologique des écosystèmes, c'est-à-dire les interactions qui s'exercent entre les êtres-vivants d'un écosystème ou entre êtres-vivants et environnement, est **essentiel** pour leur compréhension. C'est en effet ces interactions qui sont responsables entre autres, de la dynamique des populations ou du transfert des perturbations à l'ensemble de l'écosystème. Comme le souligne la Directive cadre européenne sur l'eau, la prise en compte des aspects fonctionnels dans l'évaluation de l'état écologique des masses d'eau est donc incontournable. En ce qui concerne les cours d'eau, cette évaluation est actuellement basée sur quatre bioindicateurs : poissons IPR, macroinvertébrés I2M2, macrophytes IBMR, et diatomées IBD. Or, tous ces bioindicateurs sont basés sur des listes taxonomiques, c'est-à-dire essentiellement sur la présence-absence des êtres-vivants au sein de l'écosystème, et ne mesurent pas directement les interactions existant entre ces êtres-vivants. La **prise en compte des aspects fonctionnels** par les bioindicateurs actuels reste donc **limitée** et les gestionnaires des cours d'eau ont donc **besoin d'outils complémentaires** pour évaluer leur fonctionnement de façon plus précise.

Ce constat a conduit l'Agence française pour la biodiversité (AFB) à financer des actions de recherche dans le but de **développer des indicateurs fonctionnels** de l'état écologique. Parmi ces actions, l'action 20 AFB-Irstea « indicateurs du fonctionnement trophique des cours d'eau » (2016-2017) a étudié la possibilité d'**utiliser la diversité trophique** pour développer de tels indicateurs. Par définition la diversité trophique d'un écosystème correspond à la diversité des interactions d'ordre alimentaire se produisant en son sein (cf. Figure a). Or, la plupart des interactions entre êtres-vivants sont d'ordre alimentaire et étudier la diversité trophique d'un écosystème permettrait d'appréhender une large part de son fonctionnement biologique. De plus, la diversité trophique présente l'avantage d'intégrer également la dimension structurelle d'un écosystème, puisque les interactions qui se produisent dépendent aussi des êtres-vivants qui sont présents dans l'écosystème. La diversité trophique offre donc la possibilité d'**intégrer les dimensions structurelles et fonctionnelles d'un écosystème** au sein d'une même approche et c'est pour cette raison qu'elle a été retenue comme candidat potentiel au développement d'indicateurs fonctionnels.



© Nicolas Hette-Tronquart

Figure a : Représentation théorique de la diversité trophique d'un écosystème aquatique. Par définition la diversité trophique correspond à la diversité des interactions d'ordre alimentaire existant au sein d'un écosystème. Comme le montre la figure, la diversité trophique possède deux dimensions. La dimension verticale représente la diversité des positions trophiques exprimées dans l'écosystème : des sources de matière organique (algues, macrophytes, litière), à la base, jusqu'au super-prédateur, en haut (le brochet dans l'exemple). La dimension horizontale correspond à la diversité des ressources exploitées par l'écosystème : des sources de matières organiques d'origine aquatique (algues/macrophytes), aux matières organiques d'origine terrestre (essentiellement des litières).

Objectif Le but de l'action 20 est d'examiner dans quelles mesures la diversité trophique pourrait servir de support au développement d'indicateurs fonctionnels de l'état écologique des cours d'eau. 3 axes de recherche ont ainsi été identifiés pour répondre à cette question. Dans un **premier axe**, il s'agit de proposer des outils appelés métriques permettant de **quantifier la diversité trophique**. L'enjeu consiste à sélectionner des métriques sensibles aux pressions anthropiques, dont les réponses aux facteurs naturels sont connues et dont la mise en œuvre par les gestionnaires semble faisable. La conduite de cet axe se réalise en parallèle du **deuxième axe** qui consiste à examiner les patrons de variation de la **diversité trophique** en fonction de **facteurs environnementaux naturels** (gradient amont-aval, climat, géologie) et **anthropiques** (altération morphologique et/ou pollution organique). Ces observations doivent servir de base à la modélisation des réponses de la diversité trophique aux facteurs environnementaux qui est indispensable au développement de futurs indicateurs. Enfin, le **dernier axe** du projet doit évaluer la **pertinence des métriques** de la diversité trophique, par rapport aux bioindicateurs déjà employés. En particulier, il compare les réponses de ces deux types d'indicateurs pour déterminer les apports potentiels de futurs indicateurs basés sur la diversité trophique.

Approche Trois aspects principaux caractérisent l'approche développée au cours de cette action. Le premier aspect concerne l'utilisation de l'**analyse des isotopes stables** pour quantifier la diversité trophique. Le principe repose sur la bonne **correspondance** qui existe entre l'**espace des isotopes** et l'**espace trophique**. Conceptuellement, la diversité trophique peut être vue comme un espace à deux dimensions dont l'une représente la **diversité des ressources** exploitées par les membres de l'écosystème et l'autre correspond à la **diversité des positions trophiques** occupés par les mêmes (cf. Figure 1). Or, en utilisant les isotopes du **carbone** d'une part, et ceux de l'**azote** d'autre part, on obtient une image de chacune de ces dimensions. En effet, le signal isotopique en carbone d'un être-vivant (c'est-à-dire le ratio d'abondances entre l'isotope lourd et l'isotope léger) reflète le signal isotopique de ses ressources. La variabilité des signaux isotopiques en carbone des membres de l'écosystème reflète donc la diversité des ressources exploitées. Pour l'azote, le signal isotopique s'enrichit à chaque interaction alimentaire (phénomène de bioaccumulation) et un signal élevé traduit un nombre élevé d'interactions alimentaires pour transférer l'énergie des ressources à l'organisme considéré. Autrement dit, le signal isotopique en azote peut être interprété en terme de position trophique, et l'ensemble des signaux isotopiques en azote des membres de l'écosystème reflète la diversité des positions trophiques. À partir de cette correspondance, la quantification de la diversité trophique s'effectue simplement avec des **métriques de l'espace isotopique**, basées sur la topologie du nuage de points constitué par les signaux isotopiques des membres de l'écosystème. Cela constitue l'avantage indéniable de l'analyse des isotopes stables qui n'a pas besoin de déterminer toutes les interactions alimentaires qui ont lieu au sein de l'écosystème pour obtenir une image de la diversité trophique, contrairement à l'approche des contenus stomacaux, ou aux approches d'ADN environnemental.

La deuxième caractéristique de notre approche est le **caractère empirique** de la démarche, c'est-à-dire que les analyses se fondent sur des **observations in situ** qui présentent l'avantage d'être basées sur des écosystèmes réels. Par ailleurs, cette démarche empirique est indispensable car elle fournit les données de terrain qui permettent d'établir et de valider les modèles utilisés dans le calcul des bioindicateurs. Un **plan d'expérience** a donc été établi avec **57 sites** qui ont été sélectionnés pour examiner les hypothèses développées par les trois axes de recherche. En particulier, les sites ont été répartis suivant leur distribution géographique, leur position dans le gradient amont-aval, leur altitude, leur géologie et les pressions anthropiques auxquels ils sont soumis. En complément de ces données acquises durant le projet, nous avons utilisé d'autres observations in situ provenant de l'équipe HÉF d'Irstea, ou obtenues par le biais de collaboration avec d'autres équipes de recherche. Ces observations de la diversité trophique sont toutes basées sur l'analyse des isotopes stables ce qui requiert l'échantillonnage des différents membres de l'écosystème. De manière générale, la **stratégie d'échantillonnage** était basée sur un **prélèvement représentatif du compartiment piscicole**, complété par des prélèvements de taxons cibles pour les **sources de matière organique** ainsi que de **macroinvertébrés**. Ceci avec l'objectif d'obtenir une image représentative de la diversité trophique, qui soit comparable d'un site à l'autre. Concrètement, les prélèvements correspondaient à un morceau de nageoire pour les poissons, et à un mélange de plusieurs individus entiers pour les macroinvertébrés.

Enfin, l'approche adoptée est une **démarche statistique** avec pour ambition de mettre en relation les patrons de diversité trophique avec les patrons de facteurs environnementaux. L'objectif n'est pas d'établir les mécanismes déterminant la diversité trophique, car ils sont trop nombreux et notre approche *in situ* ne nous permet pas de contrôler suffisamment de facteurs pour pouvoir les étudier de manière isolée. En revanche, si les relations statistiques entre diversité trophique et facteurs environnementaux sont suffisamment forts, l'idée est d'utiliser ces relations pour construire des modèles prédictifs de la diversité trophique. De tels modèles permettraient de prédire la diversité trophique d'un site en fonction de ses caractéristiques environnementales, pré-requis au développement d'un nouveau bioindicateur.

Acquis Un des acquis majeurs du projet est la **base de données isotopiques** créée lors du projet 20. Cette base regroupe plus de 170 observations de la diversité trophique de 114 sites différents. Environ 10000 données isotopiques concernant des échantillons de poissons, macroinvertébrés et sources de

matière organique y sont collectées, ainsi que des données concernant les caractéristiques environnementales des sites, des relevés de paramètres physiques ou biologiques. L'ampleur de cette base de données concernant la diversité trophique d'écosystèmes lotiques est unique en France et elle doit permettre d'apporter de solides éléments de réponse aux problématiques soulevées par le projet, même si elle reste limitée face à la multiplicité des situations observées en France continentale.

Grâce à cette base de données, les actions 33 et 20 ont confirmé la **faisabilité technique** de l'approche par l'analyse des isotopes stables à une large échelle spatiale, comme celle de la France continentale. Le compartiment piscicole a été échantillonné par les agents de l'AFB et il est envisageable de faire les prélèvements correspondants lors des pêches de suivi des réseaux, à condition de mettre à disposition les moyens matériels et humains adéquats. En revanche l'échantillonnage des compartiments macroinvertébrés et sources de matière organique ne semble pas réalisable par les services techniques de l'AFB, et le recours à des bureaux d'études spécialisés semble le plus opérationnel dans l'immédiat. Enfin les analyses isotopiques ne semblent pas un frein aux développements de telles métriques, car le développement des techniques d'analyse ces dernières années a permis d'atteindre des coûts d'analyses raisonnables (environ 10€ par échantillon).

De nombreux **développements méthodologiques** ont été concrétisés durant ce projet. Ils ont vocation à être transférés aux gestionnaires si ceux-ci souhaitent mettre en place un suivi isotopique de la diversité trophique. En particulier, un **protocole d'échantillonnage** a été proposé permettant d'obtenir des prélèvements harmonisés entre les différents opérateurs. Des outils isotopiques ont aussi été mis en place comme la **transformation mathématique** des signaux isotopiques de **nageoires** en signaux isotopiques de **muscles** pour les poissons (cf. Hette-Tronquart et al. 2012). C'est le cas également d'une **méthode de calcul de la ligne de base isotopique**, élément indispensable pour calculer les positions trophiques, ou la longueur de chaîne trophique à partir des signaux isotopiques (cf. rapport final de l'action 20). Des **adaptations des métriques isotopiques** existantes ont également été proposées pour étendre leur calcul à des cas particuliers, où la communauté étudiée ne comporte qu'une ou deux espèces. Un script R (R Development Core Team (2017). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.) a ainsi été publié en matériel supplémentaire de l'article Hette-Tronquart et al. (2017) dans la revue *Environmental Science and Pollution Research* (cf. aussi annexe 2 du rapport final de l'action 20). Enfin, un **cadre conceptuel** qui permet de déterminer la stratégie alimentaire dominante au sein d'une communauté a été développé en combinant deux métriques isotopiques : l'aire de l'espace isotopique de la communauté et le chevauchement moyen des espaces isotopiques spécifiques (cf. Hette-Tronquart et al. 2016 ou annexe 1 du rapport final de l'action 20).

En exploitant la base de données, L'action 20 a montré la **sensibilité de la diversité trophique aux facteurs environnementaux d'origine naturelle**. En particulier, le **gradient amont-aval** est le facteur naturel auquel la diversité trophique semble le plus liée. De l'amont à l'aval des cours d'eau la diversité trophique augmente significativement ce qui implique que toute mesure de la diversité trophique doit obligatoirement être **évaluée relativement à son contexte longitudinal** et que les métriques de diversité trophique n'ont **pas une valeur absolue**. Il faut également noter que le gradient amont-aval couvert par les sites de notre base de données ne va pas jusqu'aux très grands milieux (la surface de bassin versant maximale est de 12000 km²). Il n'est donc **pas prudent d'extrapoler** l'augmentation de la diversité trophique pour de plus grands sites. Dans une moindre mesure, la diversité trophique semble liée au **climat** et en particulier à la valeur moyenne et à la variabilité des températures. En revanche, aucune relation significative n'a été trouvée entre la diversité trophique et la géologie jusqu'à présent. Une meilleure description des caractéristiques géologiques des sites est peut-être nécessaire pour révéler une telle relation qui a l'air plus subtile que les précédentes.

Par ailleurs les résultats obtenus au cours du projet ont montré la **sensibilité de la diversité trophique aux facteurs environnementaux anthropiques**. En comparaison avec les relations observées pour les facteurs naturels, cette sensibilité semble moins forte. Là aussi une meilleure description des pressions anthropiques semble nécessaire pour améliorer ces relations. Toutefois les **altérations morphologiques** ne semblent pas liées à la diversité trophique de la même façon que la **pollution organique**, ou qu'une combinaison de ces deux types de pression. De plus les résultats ont aussi montré que la diversité trophique est liée à l'**occupation des sols**, même si, en l'état actuel, nos travaux ne nous permettent pas encore de préciser cette relation.

Enfin, la **comparaison** entre métriques de la **diversité trophique** et **bioindicateurs existants** a montré une **certaine cohérence** entre ces deux types d'outils. En particulier la diversité trophique a tendance à être maximale sur les sites possédant le meilleur état écologique selon l'IPR. Dans le même temps, la relative faiblesse de la relation suggère une **certaine complémentarité** entre la diversité trophique et l'IPR. Le travail doit maintenant se poursuivre, notamment en considérant d'autres bioindicateurs que l'IPR et de meilleurs descripteurs des facteurs environnementaux pour tenter de mieux apprécier cette complémentarité.

Perspectives Le projet des actions 33 et 20 a permis de poser les premiers jalons du développement d'indicateur fonctionnel de l'état écologique basé sur la diversité trophique. Dans l'immédiat il est indispensable de poursuivre et d'approfondir l'exploitation de la base de données isotopiques constituée au cours du projet. En particulier, certains facteurs environnementaux dont les pressions anthropiques doivent être décrits plus finement dans le but d'améliorer les relations avec la diversité trophique. Cela permettra aussi de clarifier la complémentarité entre bioindicateurs actuels et diversité trophique. À plus long terme, cette étude pourra aussi être étendue aux autres outils fonctionnels actuellement développés par d'autres équipes de recherche (par exemple taux de dégradation de la matière organique).

Si ces approfondissements sont concluants pour la perspective de développement de nouveaux bioindicateurs, alors de nouveaux points incontournables devront être abordés dans le cadre de futures actions. Par exemple, il sera nécessaire d'effectuer des suivis temporels de la diversité trophique pour évaluer sa variabilité temporelle, mais aussi pour estimer la rapidité de sa réponse. Des suivis longitudinaux pour mieux cerner la dimension spatiale de la diversité trophique doivent aussi être envisagés.

Enfin, la base de données isotopiques concernant la diversité trophique est un acquis susceptible de trouver des applications dans d'autres domaines comme celui de l'écotoxicologie. En effet, dans ce domaine, les gestionnaires ont besoin de connaissances sur les réseaux trophiques pour étudier les phénomènes de bioaccumulation, ou de transfert de polluants au sein de l'écosystème. À cette occasion, des synergies fortes pourraient se développer entre l'étude des réseaux trophiques et la détermination du niveau de contamination, notamment en couplant le suivi de la contamination du biote qui est en train de se mettre en place et le suivi des réseaux trophiques.

• **SOMMAIRE**

1. Introduction	10
2. Objectif et problématiques	12
2.1. Sélection des métriques de la diversité trophique	12
2.2. Effet des facteurs environnementaux	12
2.2.1. Facteurs naturels	12
2.2.2. Facteurs anthropiques	13
2.3. Étude comparée des métriques de la diversité trophique et des bioindicateurs actuels	13
3. Approche adoptée	15
3.1. Approche par l'analyse des isotopes stables	15
3.1.1. Principe de l'analyse des isotopes stables	15
3.1.2. Relation entre l'espace isotopique et l'espace trophique	15
3.1.3. Métriques isotopiques	15
3.1.4. Avantages – inconvénients	17
3.2. Approche empirique, in situ	17
3.2.1. Choix des sites	17
3.2.2. Prélèvements	18
3.3. Approche statistique	19
4. Bilan des activités	20
4.1. Collecte et construction de la base de données isotopiques	20
4.2. Transfert et valorisation	20
4.2.1. Comprendre pour Agir	21
4.2.2. Séminaires de restitution en délégation interrégionale	21
4.2.3. Appui aux gestionnaires – positions trophiques et suivi des contaminants dans le biote	21
4.2.4. Rédaction d'articles	22
5. Principaux résultats	23
5.1. Sélection de métriques isotopiques	23
5.2. Effet des facteurs environnementaux	25
5.2.1. Facteurs naturels	25
5.2.2. Facteurs anthropiques	28
5.3. Comparaison avec les bioindicateurs actuels	29
6. Conclusion et perspectives	32
7. Glossaire	33
8. Sigles & Abréviations	34
9. Bibliographie	35
10. Table des illustrations	37
11. Annexes	38
12. Remerciements	81

- **INDICATEURS DU FONCTIONNEMENT TROPHIQUE DES COURS D'EAU – APPROCHE PAR L'ANALYSE DES ISOTOPES STABLES**

1. Introduction

La Directive Cadre sur l'Eau (DCE) définit l'état écologique comme « l'expression de la qualité de la **structure** et du **fonctionnement** des écosystèmes aquatiques ». Les états membres de l'Union européenne sont donc tenus réglementairement, de prendre en compte ces deux aspects, structurel et fonctionnel, dans l'évaluation de l'état écologique de leurs masses d'eau. D'un point de vue biologique, le **structure** d'un écosystème correspond à sa composition floristique et faunistique, c'est-à-dire aux différentes espèces qui constituent cet écosystème. D'autre part, le **fonctionnement** biologique correspond aux interactions entre êtres-vivants et entre êtres-vivants et biotope. Évaluer la composante biologique d'un écosystème requiert donc de s'intéresser à la fois aux espèces présentes et à leurs interactions, entre elles et avec le milieu.

Actuellement, les outils dont disposent les gestionnaires pour évaluer la composante biologique des cours d'eau sont les indices poissons (IPR), macroinvertébrés (I2M2), macrophytes (IBMR) et diatomées (IBD). Or, tous ces **bioindicateurs** sont **basés sur des listes taxonomiques**. Ils sont donc directement liés à la structure des écosystèmes dont ils permettent de rendre compte, mais ils ne mesurent pas directement le fonctionnement. La solution retenue par ces indicateurs pour aborder la dimension fonctionnelle consiste à utiliser les listes taxonomiques ainsi que les traits biologiques et écologiques des taxons pour en déduire le fonctionnement biologique le plus probable. **La prise en compte des aspects fonctionnels par les bioindicateurs actuels reste donc limitée**. Par exemple, elle ne permet pas de rendre compte de la plasticité des êtres-vivants ou de la variabilité des comportements (e.g. Bolnick 2003), car avec cette approche une même liste taxonomique aboutit toujours à la même estimation de fonctionnement.

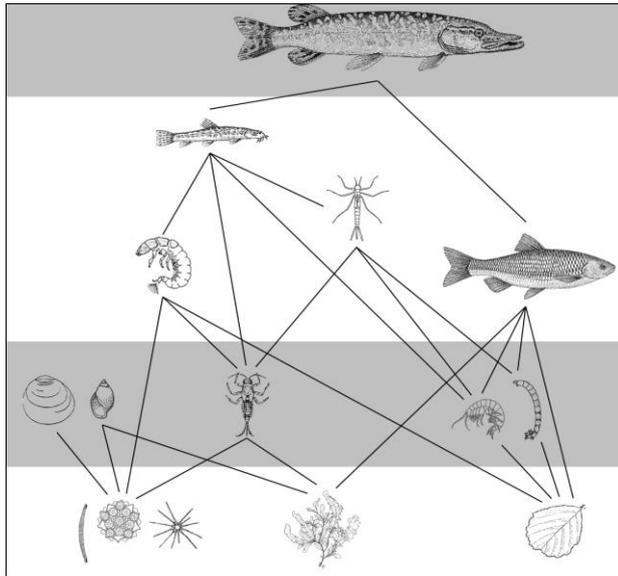
Les gestionnaires ont donc besoin d'outils complémentaires pour évaluer le fonctionnement des écosystèmes de façon plus précise. Ce constat a conduit l'Agence Française pour la Biodiversité (AFB) à financer des actions de recherche dans le but de **développer des indicateurs fonctionnels de l'état écologique**. Parmi ces actions, l'action 20 AFB-Irstea « indicateurs du fonctionnement trophique des cours d'eau » (2016-2017) a étudié la possibilité d'**utiliser la diversité trophique**, c'est-à-dire la diversité des interactions d'ordre alimentaire (cf. Figure 1), pour développer de tels indicateurs. Poursuivant le travail de l'action 33 Onema-Irstea « caractérisation des réseaux trophiques en cours d'eau » (2013-2015), l'action 20 se fonde sur le constat que **la plupart des interactions** entre êtres-vivants **sont d'ordre alimentaire** (Elton, 1927). Étudier la diversité trophique d'un écosystème permet ainsi d'appréhender une large part de son fonctionnement. De plus, la diversité trophique présente l'avantage d'intégrer également la dimension structurelle d'un écosystème, puisque les interactions qui se produisent dépendent aussi des espèces qui sont présentes dans l'écosystème. La **diversité trophique** offre donc la possibilité d'**intégrer les dimensions structurelle et fonctionnelle** d'un écosystème au sein d'une même approche, ce qui fait d'elle une piste prometteuse pour le développement de nouveaux bioindicateurs.

C'est cette piste que nous avons explorée avec les actions 33 puis 20. L'action 33 a permis de mettre en œuvre l'**approche diversité trophique à l'échelle de la France continentale**, en étudiant 57 réseaux trophiques, des sources de matière organique aux poissons, en passant par les macro-invertébrés. Ce travail, mené de 2013 à 2015, a poursuivi la caractérisation des réseaux trophiques des cours d'eau entreprise par l'équipe HÉF d'Irstea (Antony) depuis 2009. L'AFB a ensuite souhaité approfondir ce travail par l'action 20, en mettant notamment l'**accent sur le transfert et la valorisation** des données acquises précédemment. Une grosse part du travail accompli durant l'action 20 a donc consisté à la diffusion des résultats, avec notamment la rédaction d'articles scientifiques, la rédaction d'un ouvrage « comprendre pour agir », le transfert de notre expertise pour le suivi des contaminants dans le biote et des séminaires de restitution déconcentrés, dans les délégations interrégionales. Une autre part du travail a été consacré à la constitution d'une base de données « diversité trophique », regroupant les résultats obtenus durant l'action 33, mais également ceux obtenus antérieurement par l'équipe HÉF d'Irstea, ainsi que ceux issus de collaborations scientifiques.

Pour développer cette approche *diversité trophique*, nous avons choisi d'utiliser l'**analyse des isotopes stables** du carbone et de l'azote, car elle constitue une méthode **robuste** et **relativement simple**, qui est développée depuis plus de 30 ans. Son principal avantage est de donner une mesure directe de la diversité trophique sans avoir à déterminer les interactions trophiques se produisant au sein de l'écosystème. Son principe repose sur l'utilisation des isotopes stables comme des traceurs naturels de biomasse.

Ce rapport présente l'objectif et les problématiques du projet de l'action 20. Il rappelle ensuite la méthodologie (et notamment l'approche par analyse des isotopes stables) que nous avons adoptée au

cours des actions 33, puis 20. Enfin, il dresse le bilan des activités réalisées durant l'action 20 et expose les perspectives de ce travail.



© Nicolas Hette-Tronquart

Figure 1 : Représentation théorique de la diversité trophique d'un écosystème aquatique. Par définition la diversité trophique correspond à la diversité des interactions d'ordre alimentaire existant au sein d'un écosystème. Comme le montre la figure, la diversité trophique possède deux dimensions. La dimension verticale représente la diversité des positions trophiques exprimées dans l'écosystème : des sources de matière organique (algues, macrophytes, litière), à la base, jusqu'au super-prédateur, en haut (le brochet dans l'exemple). La dimension horizontale correspond à la diversité des ressources exploitées par l'écosystème : des sources de matières organiques d'origine aquatique (algues/macrophytes), aux matières organiques d'origine terrestre (essentiellement des litières).

2. Objectif et problématiques

Dans la perspective de développer des indicateurs fonctionnels, l'objectif de l'action 20 est d'établir les connaissances fondamentales nécessaires au développement de tels indicateurs, en se concentrant sur la diversité trophique.

Pour répondre à cet objectif, l'action 20 s'articule autour de trois axes de recherche. Dans un premier axe, il s'agit de proposer des outils basés sur les isotopes stables pour quantifier la diversité trophique. Le but est de sélectionner les métriques de la diversité trophique qui sont les plus pertinentes parmi la panoplie de métriques disponibles. L'enjeu consiste à trouver des métriques sensibles aux pressions anthropiques, dont les réponses aux facteurs naturels sont connues et dont la mise en œuvre par les gestionnaires semble faisable. La conduite de cet axe se réalise en parallèle du deuxième axe qui consiste à examiner les patrons de variation de la diversité trophique en fonction de facteurs environnementaux naturels et anthropiques. Ces observations doivent servir de base à la modélisation des réponses de la diversité trophique aux facteurs environnementaux qui est indispensable au développement de futurs indicateurs. Enfin, le dernier axe du projet doit évaluer la pertinence des métriques de la diversité trophique, par rapport aux bioindicateurs déjà employés. En particulier, il compare les réponses de ces deux types d'indicateurs pour déterminer les apports potentiels de futurs indicateurs basés sur la diversité trophique.

2.1. Sélection des métriques de la diversité trophique

Face aux différents types de métriques qui peuvent être calculées à partir des isotopes stables pour quantifier la diversité trophique, l'évaluation des avantages et inconvénients des métriques isotopiques nous paraît incontournable pour établir des recommandations concernant l'emploi des différentes métriques. Nous proposons de focaliser cette évaluation sur 3 points principaux : 1- la sensibilité des métriques aux pressions anthropiques, 2- la réponse des métriques aux facteurs environnementaux naturels, et 3- la faisabilité de la mise en œuvre de ces métriques par les gestionnaires.

Dans la perspective de bioindication, il est évident que les métriques sélectionnées doivent répondre aux pressions anthropiques, car c'est cette réponse qui permet d'évaluer l'état écologique des cours d'eau. Cependant, les métriques doivent-elles répondre chacune à un type différent de pression anthropique (caractère diagnostique des métriques) ? Ou au contraire, doivent-elles être sensibles simultanément à différents types de pressions (caractère généraliste) ?

Par ailleurs, il faut avoir une bonne connaissance des réponses des métriques aux facteurs environnementaux naturels. Sans cela, il n'est pas possible de distinguer la variabilité des métriques de la diversité trophique due aux facteurs naturels, de celle due aux pressions anthropiques.

Enfin l'évaluation des métriques implique des efforts d'échantillonnage différents en fonction des compartiments du réseau trophique à analyser. Certaines métriques isotopiques, comme la longueur de chaîne trophique, peuvent être calculées avec un nombre restreint de taxons, tandis que d'autres nécessitent l'analyse de l'ensemble du réseau trophique. Il est intéressant de comparer ces différentes métriques pour examiner s'il est absolument nécessaire d'échantillonner l'ensemble du réseau trophique, ce qui représente des conséquences non négligeables en termes de mise en œuvre.

2.2. Effet des facteurs environnementaux

Au cours de l'action 33, les effets des facteurs environnementaux ont commencé à être étudiés. Selon les principes de la bioindication, il est indispensable de distinguer la variabilité de la diversité trophique qui résulte de facteurs naturels, de la variabilité qui est due à des facteurs anthropiques. C'est pourquoi nous avons d'abord cherché à caractériser les réponses de la diversité trophique aux facteurs environnementaux naturels. Cela permet dans un second temps d'examiner comment ces réponses sont éventuellement modifiées en présence de pressions anthropiques.

2.2.1. Facteurs naturels

À partir d'éléments bibliographiques, nous avons pré-identifié trois facteurs naturels déterminants pour le fonctionnement des cours d'eau (cf. Petts & Calow, 1996) : le gradient amont-aval, la géologie et le climat. Dans les précédents rapports relatifs à l'action 33, nous avons détaillé les raisons de ce choix. Pour mémoire, nous les rappelons brièvement.

Le gradient amont-aval représente le changement progressif des caractéristiques physiques des cours d'eau de leur source à leur exutoire. En réponse à ce gradient, il existe également une modification des communautés biologiques et de leur fonctionnement de l'amont à l'aval des cours d'eau (par exemple : Verneaux et al., 2003, Belliard et al., 1997). Nous supposons donc que ce

facteur modifie le fonctionnement trophique des cours d'eau et peut en être un déterminant essentiel, comme le laisse penser les résultats d'autres études (e.g. Chang et al., 2012).

Nous avons également retenu la géologie, car elle contrôle les processus géomorphologiques (Allan, 2004) et de ce fait, influence fortement la diversité des habitats disponibles dans le cours d'eau. De plus, elle joue un rôle dans la production primaire des cours d'eau, en modifiant les teneurs des différents ions présents dans l'eau. Pour l'action 33, nous avons évalué la géologie avec une caractérisation grossière, distinguant roches calcaires et roches siliceuses. Pour l'action 20, nous proposons d'affiner cette évaluation et de la compléter par une mesure la chimie de l'eau. Comme nous supposons que la géologie peut influencer les réseaux trophiques via les teneurs en ions majeurs, l'idée est de tester directement si la composition chimique de l'eau (teneurs des différents ions, stœchiométrie des éléments majeurs...) détermine la diversité trophique.

Enfin l'effet du climat est un élément incontournable dans le fonctionnement des cours d'eau. Selon le climat, les productions primaires aquatiques et terrestres ne sont pas les mêmes, les communautés biologiques sont différentes, tout comme les interactions entre organismes et entre organismes et milieu. De plus dans le contexte de changement global, l'étude de ce facteur peut permettre d'anticiper les réponses trophiques des cours d'eau au changement climatique. Nous évaluerons le facteur climatique grâce à des données de température, de pluviométrie et d'altitude.

2.2.2. Facteurs anthropiques

Initialement, le projet de l'action 33 se concentrait sur l'étude de 2 facteurs environnementaux anthropiques : les altérations morphologiques et la pollution organique. Les hypothèses sous-jacentes étaient que les altérations morphologiques entraînent des modifications de la diversité des habitats, elle-même supposée influencer le fonctionnement trophique (par exemple, Thompson & Townsend, 2005), et que la pollution organique modifie la production primaire des cours d'eau, et/ou qu'elle constitue une ressource pour les consommateurs, avec des conséquences pour l'ensemble du réseau trophique. Le traitement de cette problématique était d'ordre préliminaire par le nombre de facteurs anthropiques étudiés et par le nombre de sites concernés, mais il devait fournir les premiers éléments pour l'établissement d'indicateurs fonctionnels basés sur la diversité trophique.

Au cours du développement de l'action 33, nous nous sommes aperçus que l'étude des facteurs anthropiques ne pouvait être découplée de l'étude des facteurs environnementaux naturels. En effet, malgré la stratégie d'échantillonnage mise en place, aucun site ne s'est révélé exempt de pressions anthropiques. En conséquence, nous avons choisi d'affiner notre description des pressions anthropiques pour déterminer les gradients de pressions s'exerçant sur l'ensemble de nos sites. Cela doit permettre d'étudier l'effet des facteurs anthropiques avec le même jeu de données que l'examen des facteurs environnementaux naturels, l'analyse pouvant se faire conjointement.

Enfin, nous avons choisi de compléter l'étude des facteurs anthropiques en examinant l'influence de l'occupation des sols sur la diversité trophique. Cette approche est un peu différente, car l'occupation des sols peut être vue de 2 manières. Tout d'abord l'occupation des sols peut modifier directement le fonctionnement des cours d'eau (par exemple, altération de la production primaire, via la présence/absence de ripisylve, Sweeney 1992). Elle peut donc être elle-même un facteur déterminant la diversité trophique. Par ailleurs, l'occupation des sols peut être utilisée comme une mesure intermédiaire indicatrice de pressions anthropiques (altérations morphologiques, chimiques...). Dans ce cas, l'occupation des sols n'est pas un facteur de contrôle de la diversité trophique en tant que tel, mais traduit un niveau général de pressions s'exerçant sur le cours d'eau. Cette seconde approche présente l'avantage d'aborder les pressions anthropiques de manière globale, ce qui est susceptible de mieux correspondre au caractère intégrateur de la diversité trophique.

2.3. Étude comparée des métriques de la diversité trophique et des bioindicateurs actuels

Avant de créer de nouveaux indicateurs de l'état écologique des cours d'eau basés sur la diversité trophique, il convient d'étudier les complémentarités que ces indicateurs pourraient avoir avec les bioindicateurs actuels. Pour cela, nous proposons de comparer les réponses des métriques de la diversité trophique avec celles des indices poissons (IPR), macroinvertébrés (I2M2), macrophytes (IBMR) et diatomées (IBD). Plus précisément nous ferons une analyse de sensibilité des réponses, en termes d'intensité, mais aussi en termes de rapidité. Compte-tenu du caractère intégrateur des métriques de la diversité trophique, tenant compte à la fois de la structure et du fonctionnement de l'écosystème, nous supposons que ces métriques puissent détecter des altérations de l'état écologique

qui ne sont pas détectables par les bioindicateurs actuels. Cette étude comparée doit permettre de tester cette hypothèse.

Par ailleurs, d'autres outils mesurant le fonctionnement des cours d'eau sont également en cours de développement pour fournir d'autres indicateurs. Dans le futur, il sera également intéressant d'étudier la complémentarité des métriques de la diversité trophique avec ces autres mesures du fonctionnement biologique (par exemple, taux de dégradation de la matière organique).

3. Approche adoptée

Trois aspects principaux caractérisent l'approche développée au cours des actions 33 et 20. Le premier aspect est l'utilisation de l'**analyse des isotopes stables** pour quantifier la diversité trophique. Le deuxième point concerne le **caractère empirique** de la démarche, c'est-à-dire que les analyses se fondent sur des observations qui, pour la plupart, ont été réalisées au cours du projet. Enfin, l'approche adoptée est une **démarche statistique** avec pour ambition de mettre en relation les patrons de diversité trophique avec les patrons de facteurs environnementaux.

3.1. Approche par l'analyse des isotopes stables

3.1.1. Principe de l'analyse des isotopes stables

L'utilisation des isotopes stables pour l'étude de la diversité trophique se fonde sur les travaux de Fry et al. (1978) et DeNiro & Epstein (1978, 1981). Dans la nature, les différents isotopes d'un élément sont présents dans différentes proportions, appelées abondances. Le principe de l'approche isotopique repose sur le fait que la matière organique d'un être vivant provient des éléments nutritifs qu'il a assimilés. L'abondance isotopique d'un individu est donc liée aux abondances de ce qui a été assimilé. Du fait de leur structure électronique identique, mais de leur masse différente, les isotopes réagissent de façon similaire mais avec des énergies d'activation et des vitesses de réaction légèrement différentes. Il en résulte des modifications des abondances naturelles lors des réactions d'assimilation/excrétion de la matière organique : c'est le fractionnement isotopique. Généralement ces modifications conduisent à un enrichissement en isotope le plus lourd, c'est-à-dire que la matière organique synthétisée contient plus d'isotopes lourds que les nutriments utilisés pour réaliser la synthèse. L'isotope lourd d'un élément chimique peut ainsi jouer le rôle de traceur trophique, puisqu'il s'enrichit à chaque étape de digestion/assimilation suivant un processus de bioaccumulation. C'est ce principe qui est utilisé pour l'analyse de la diversité trophique à l'aide des isotopes stables.

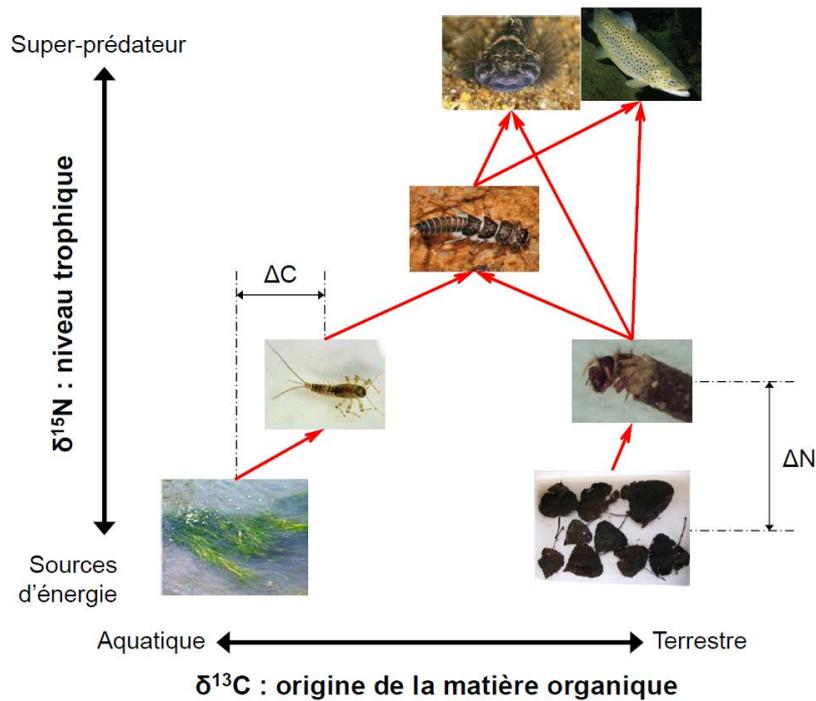
3.1.2. Relation entre l'espace isotopique et l'espace trophique

Concrètement c'est le signal isotopique noté δ qui est mesuré. Par définition, le signal isotopique est une mesure standardisée du rapport isotopique entre les abondances en isotopes lourd et léger dans l'échantillon. La standardisation s'effectue en mesurant l'écart relatif entre le rapport isotopique dans l'échantillon et celui d'un standard international. Le signal isotopique est donc relié à l'abondance en isotope lourd et un signal élevé traduira un enrichissement en isotopes lourds. Différents éléments chimiques peuvent être employés (C, N, O, H, S,...), mais dans le cas des écosystèmes dulçaquicoles, ce sont principalement le carbone et l'azote qui sont utilisés, car ils constituent une part importante de la matière organique. De plus ces deux éléments ne possèdent pas le même fractionnement isotopique. Pour le carbone, le fractionnement est faible (0.4 ‰, Post 2002) et le signal isotopique de la matière organique synthétisée reste proche des signaux des aliments servant à la synthèse. À l'inverse pour l'azote, le fractionnement est conséquent (3.4 ‰, Post 2002) et le signal isotopique de la matière organique synthétisée est nettement plus élevé que les signaux des aliments. Par conséquent, ces deux éléments sont souvent utilisés différemment (Figure 2). Généralement, le carbone sert à déterminer l'origine des sources de matière organique exploitées par l'écosystème (dans le cas des cours d'eau, origine aquatique = signal isotopique faible, origine terrestre = signal isotopique élevé), tandis que l'azote permet de distinguer les différents niveaux trophiques (le signal isotopique augmente à partir des signaux des sources de matière organique jusqu'aux signaux des prédateurs). Ainsi en se plaçant dans le plan isotopique carbone – azote, comme celui de la Figure 2, on retrouve les deux dimensions de la diversité trophique représentée Figure 1 : la dimension verticale des positions trophiques et la dimension horizontale des sources de matière organique. C'est cette correspondance entre l'espace isotopique et l'espace trophique qui est à la base de l'utilisation des isotopes stables pour évaluer la diversité trophique.

3.1.3. Métriques isotopiques

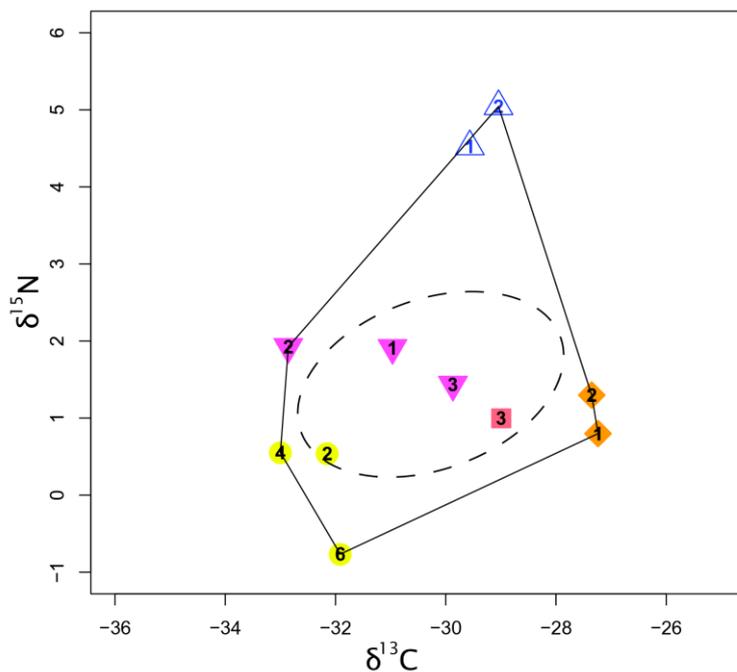
Une fois que les analyses isotopiques des différents membres de l'écosystème ont été réalisées, les signaux isotopiques en carbone et azote permettent de les placer dans le plan isotopique. Leurs positions sont alors utilisées pour calculer les métriques isotopiques. Développées depuis 10 ans (e.g. Layman et al. 2007, ou Cucherousset & Villéger 2015), les métriques isotopiques permettent de quantifier différents aspects de la diversité trophique. La Figure 3 présente 2 métriques couramment utilisées qui intègrent les deux dimensions de la diversité trophique (diversité des positions trophiques et diversité des ressources exploitées). D'autres métriques ne

s'intéressent qu'à une seule des deux dimensions, comme par exemple la longueur de chaîne trophique qui mesure la position trophique maximale atteinte au sein d'une communauté et qui ne considère donc que la dimension verticale de la diversité trophique. Les métriques peuvent également s'envisager à différents niveaux d'organisation, permettant de s'intéresser à la diversité trophique de l'ensemble de la communauté ou à celle des espèces.



© Nicolas Hette-Tronquart

Figure 2 : Principe de l'utilisation des isotopes stables pour les études de diversité trophique. Les principaux transferts d'énergie s'effectuent suivant le sens des flèches. ΔC et ΔN représentent le fractionnement isotopique existant entre un consommateur et sa nourriture.



© Nicolas Hette-Tronquart

Figure 3 : 2 exemples de métriques isotopiques. Les différents symboles représentent des taxons différents membres d'une même communauté. Ils sont placés en fonction des signaux isotopiques en carbone ($\delta^{13}\text{C}$) et azote ($\delta^{15}\text{N}$). L'aire du polygone convexe en traits pleins englobant tous les symboles est une métrique, mesurant la diversité trophique de la communauté de taxon. Elle intègre à la fois la dimension verticale (diversité des positions trophiques) et la dimension horizontale (diversité des ressources exploitées). L'aire de l'ellipse standard en pointillé fournit une autre métrique, quantifiant le cœur de l'espace trophique occupé par la communauté.

3.1.4. Avantages – inconvénients

Par rapport aux autres méthodes, l'analyse des isotopes stables présentent l'énorme avantage de donner une image de la diversité trophique sans avoir à déterminer précisément l'ensemble des interactions trophiques qui se produisent dans l'écosystème. Le signal isotopique d'un organisme est en effet le fruit de toutes les interactions alimentaires qui ont eu lieu pour former sa matière organique qui le compose. L'approche isotopique permet donc d'obtenir une **vision intégrée** dans **l'espace** et dans le **temps** de la diversité trophique d'un écosystème, juste à partir des signaux isotopiques. Cela la rend relativement **plus simple** que les observations directes des interactions trophiques, ou que l'analyse visuelle ou génétique des contenus stomacaux.

En revanche, le caractère intégrateur du signal isotopique rend très difficile la détermination précise d'un régime alimentaire. Au-delà de 3 sources de matière organique différentes, il n'est plus possible de déterminer exactement les contributions relatives de chaque source dans le régime alimentaire avec les seuls isotopes du carbone et de l'azote (cf. Phillips and Greg 2003). Malgré le développement des modèles de mélange (Phillips 2012), il est illusoire d'utiliser les isotopes stables pour déterminer la liste taxonomique du régime alimentaire d'un organisme. L'analyse des contenus stomacaux reste à ce titre bien plus performante.

Par ailleurs, il faut souligner que la correspondance entre espace isotopique et espace trophique n'est pas triviale. Certains facteurs viennent en effet la perturber. Par exemple, la diversité des sources de matière organique ne peut se retrouver dans l'espace isotopique, que si les signaux isotopiques de ces sources sont différents. De plus la variabilité des signaux isotopiques ne reflète pas uniquement une variabilité trophique. La variabilité du fractionnement isotopique, le taux de renouvellement des tissus, les erreurs analytiques sont autant de sources de variabilité qui sont intégrées dans les signaux isotopiques.

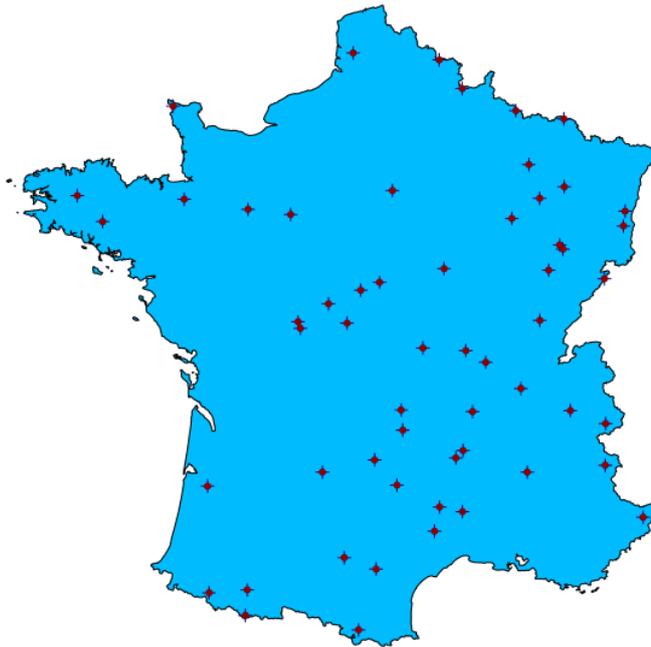
Malgré ces réserves, le caractère intégrateur des signaux isotopiques est un point très intéressant pour le développement de bioindicateurs. En effet, le rôle d'un bioindicateur est justement d'intégrer l'ensemble des perturbations auxquelles est soumis l'écosystème. Les métriques isotopiques de la diversité trophique devraient permettre de réaliser cette fonction.

3.2. Approche empirique, *in situ*

3.2.1. Choix des sites

Dans le cadre du développement de bioindicateurs, la phase de recueil de données de terrain est indispensable, car c'est elle qui fournit les données permettant d'établir et de valider les modèles utilisés dans le calcul des bioindicateurs. Or, les observations de la diversité trophique étaient encore très parcellaires à l'échelle de la France au début du projet en 2013. C'est pourquoi, nous avons adopté une **démarche empirique** permettant de mieux caractériser la diversité trophique à l'échelle du territoire métropolitain. Cette démarche est basée sur des observations **in situ**, qui présentent l'avantage d'étudier la diversité trophique exhibée par des **écosystèmes réels**. En revanche, ces écosystèmes sont soumis à des conditions environnementales qui ne peuvent pas être contrôlées. La solution consiste à utiliser la variabilité existante des écosystèmes pour retenir ceux dont les conditions environnementales sont en adéquation avec les hypothèses à tester. Dans le cadre de ce projet, le but était d'examiner l'influence des facteurs environnementaux sur la diversité trophique, le choix des sites a donc été réalisé de manière à répartir les sites suivant différents gradients de facteurs environnementaux.

Au total 57 sites ont été retenus dans notre plan d'expérience. Ils ont été distribués pour obtenir une **répartition géographique homogène**, se voulant représentative de la France continentale (cf. Figure 4). Ce faisant, les sites ont été choisis pour **couvrir une large partie du gradient amont-aval**. Par exemple, les sites contenus dans le plan d'expérience permettent d'obtenir un gradient de surfaces de bassin versant drainé allant de quelques km² à plus de 12000 km². Par ailleurs, pour tester l'effet de la **géologie**, les sites ont été équitablement répartis entre les cours d'eau s'écoulant sur des roches d'origine **siliceuse** et ceux s'écoulant sur les roches d'origine **calcaire**. L'influence du **climat** a aussi été prise en compte puisque les sites sont répartis suivant le **régime pluvial** (régime pluvial fort, régime pluvial modéré, régime pluvial-nival-glaciaire) et suivant l'**altitude** (de 17 à 1680m). Enfin, les sites ont été choisis en fonction des **pressions anthropiques** auxquelles ils étaient soumis. Pour cela, l'expertise réalisée dans le cadre du développement de l'IPR+ a permis de déterminer la nature et le degré des pressions anthropiques. Le choix des sites s'est alors principalement orienté vers des sites **faiblement soumis aux pressions** et dans une moindre mesure, vers des sites fortement impactés par une **altération morphologique**, ou/et par une **pollution organique**.



© Nicolas Hette-Tronquart

Figure 4 : Distribution géographique des 57 sites retenus dans le plan d'expérience des actions 33 et 20.

3.2.2. Prélèvements

L'utilisation d'une approche empirique a aussi nécessité le développement d'une **stratégie d'échantillonnage** permettant d'évaluer la diversité trophique des sites retenus dans le plan d'expérience, en cohérence avec l'approche par analyse des isotopes stables. L'enjeu de l'échantillonnage est d'obtenir une image représentative de la diversité trophique, qui soit comparable d'un site à l'autre. Pour cette étude la stratégie d'échantillonnage était basée sur un **prélèvement représentatif du compartiment piscicole**, complété par des prélèvements de **sources de matière organique** ainsi que de **macroinvertébrés**. Concrètement, la majeure partie des prélèvements de poissons a été réalisée par les agents de l'AFB, tandis que l'équipe HÉF d'Irstea s'est chargée des prélèvements de macroinvertébrés et de sources de matière organique.

En ce qui concerne les poissons, l'objectif était d'obtenir une **image représentative** du compartiment piscicole **et harmonisée** entre les différentes équipes effectuant le prélèvement. Pour ce faire un protocole d'échantillonnage en direction des agents de l'AFB a été élaboré en 2013. Son principe est d'échantillonner des individus adultes de toutes les espèces qui ont été trouvées en nombre conséquent sur le site étudié (au moins 10 individus), à hauteur de 5 individus. À cela s'ajoutent les espèces prédatrices, ou dont les individus sont de grandes tailles, même s'il n'y a qu'un nombre restreint d'individus, car ces espèces sont rarement très abondantes (cf. le principe de limitation énergétique des réseaux trophiques et le concept de pyramide des nombres d'Elton, 1927).

Pour les poissons les prélèvements ont consisté en des biopsies de morceaux de nageoire pour la plupart des espèces. L'utilisation de ce type de tissu à la place du muscle dorsal blanc (utilisé de manière plus standard) a été validée par l'existence de relations étroites entre les signaux isotopiques des muscles et des nageoires (Hette-Tronquart et al., 2013). Il permet d'éviter le sacrifice de l'individu, car la majorité des poissons survit à ces ablations partielles de nageoires. Lorsque c'était possible, l'échantillonnage de 5 individus permettra d'évaluer la variabilité individuelle des signaux isotopiques. Entre 2013 et 2015, **54 sites** ont été prospectés durant l'été (dont certains plusieurs fois), **33 espèces** ont été prélevées (Ablette, Anguille, Barbeau fluviatile, Blageon, Bouvière, Brème, Brochet, Carassin argenté, Carassin commun, Carpe commune, Carpe cuir, Carpe miroir, Chabot, Chevaine, Epinoche, Gardon, Goujon, Grémille, Hotu, Loche Franche, Ombre, Perche, Perche soleil, Pseudorasbora, Rotengle, Sandre, Saumon, Silure, Spirin, Tanche, Truite Fario, Vairon et Vandoise) pour un total de **1680 échantillons**.

Pour le compartiment des sources de matière organique et des macroinvertébrés, la stratégie d'échantillonnage s'est basée sur le **choix de taxons cibles**, représentant des jalons pour évaluer la diversité trophique (par exemple, choix de macroinvertébrés avec des régimes alimentaires particuliers). L'objectif était de faciliter les comparaisons entre sites en assurant une base de

taxons la plus commune possible entre les sites. De plus, cette stratégie a été adoptée, car un échantillonnage représentatif du compartiment macroinvertébré n'était pas réaliste. Il aurait nécessité des moyens humains beaucoup plus importants, car il aurait fallu collecter et trier au moins 10 prélèvements normalisés dans différents habitats suivant leurs abondances relatives sur le site. Ce type d'échantillonnage représentatif a été réalisé dans le cadre du doctorat de N. Hette-Tronquart sur 4 sites, mais n'est pas envisageable à une échelle aussi large que celle de notre étude.

Concrètement, la base commune de prélèvements pour les sources de matière organique était constituée des prélèvements de **biofilm épilithique**, de **matières en suspension** et de **litière**. Ces prélèvements ont été complétés au cas par cas par d'autres sources de matière organique, comme des macrophytes, des bryophytes ou des algues, lorsqu'elles étaient présentes de manière abondante sur le site étudié. Pour les macroinvertébrés, l'échantillonnage était ciblé sur des taxons **brouteur**, **racleur**, **filtreur actif**, **filtreur passif**, **déchiqueteur**, **microdétritivore** et **prédateur**. Dans la mesure du possible, les prélèvements de chaque taxon cible se concentraient sur un genre identique. Cependant, si le genre était absent du site étudié, il était remplacé si possible par un autre genre possédant la même stratégie alimentaire. Enfin, lorsque des taxons étaient très abondants sur un site, ils ont également fait l'objet d'un prélèvement, même s'ils ne faisaient pas partie de la liste des taxons cibles, car ils étaient susceptibles de représenter une source importante de matière organique pour les consommateurs supérieurs.

Dans la plupart des cas, les prélèvements de sources de matière organique et de macroinvertébrés ont eu lieu sur les mêmes sites que les prélèvements de poissons, dans les semaines précédentes, afin de garantir une cohérence spatiale et temporelle entre les différents compartiments échantillonnés. Pour les sources de matière organique et de macroinvertébrés, un prélèvement consiste en un échantillon composite constitué de plusieurs individus (de 1 à plusieurs dizaines pour les plus petits taxons), car chaque échantillon doit contenir environ 2 mg de matière organique sèche. L'échantillonnage de la variabilité individuelle n'est donc pas possible pour les sources de matière organique et les macroinvertébrés. Cependant pour des raisons de fiabilité des données, 3 échantillons composites étaient prélevés pour chaque taxon cible, à chaque fois que cela était possible.

3.3. Approche statistique

Les prélèvements puis l'analyse isotopique des échantillons permet de fournir une quantification de la diversité trophique par le biais des métriques isotopiques sur chacun des sites étudiés. L'idée est ensuite d'essayer de relier les patrons de diversité trophique aux caractéristiques environnementales des sites étudiés. C'est donc une **approche statistique** qui a été retenue permettant d'estimer la force des relations entre patrons de diversité trophique et gradients de facteurs environnementaux. L'ambition du projet n'est pas d'expliquer les mécanismes sous-jacents à la diversité trophique. Les mécanismes susceptibles d'influencer la diversité trophique sont bien trop nombreux et notre approche *in situ* ne nous permet pas de contrôler suffisamment de facteurs pour pouvoir les étudier de manière isolée. Toutefois, les relations obtenues pourront suggérer des mécanismes expliquant les variations de diversité trophique observées, mais cela restera au stade d'hypothèses qui n'ont pas vocation à être testées dans le cadre de ce projet.

4. Bilan des activités

Les activités de l'action 20 ont principalement concerné le transfert et la valorisation des données. Au cours de l'action précédente (action 33), la majeure partie des prélèvements avait été réalisée et une seule petite campagne d'échantillonnage a été réalisée au cours de l'action 20, en 2016. Son objectif était d'examiner l'évolution de la diversité trophique suite à des opérations de restauration écologique. Les analyses isotopiques de tous les échantillons collectés se sont poursuivies au cours de l'action 20 et auraient dû être largement terminées, si l'équipement utilisé n'avait pas subi plusieurs pannes conduisant à son indisponibilité durant la majeure partie de l'action 20. Elles seront achevées au début de l'année 2018, dès que l'équipement sera de nouveau opérationnel. L'essentiel de l'action a donc consisté à finaliser la collecte de données (tant concernant la diversité trophique que les caractéristiques environnementales) et à les mettre en forme pérenne dans une base de données. Parallèlement, ces données ont été exploitées pour étudier les problématiques de l'action 20 et les résultats obtenus ont fait l'objet de plusieurs actions de transfert/vulgarisation ainsi que de valorisation.

4.1. Collecte et construction de la base de données isotopiques

Au cours du projet porté par les actions 33, puis 20, de nombreuses données ont été collectées, 68 sites ont été étudiés et plus de 4500 échantillons ont été prélevés et analysés. Il est donc apparu nécessaire de pérenniser ces informations en créant une base de données isotopiques permettant une meilleure conservation des données. Par ailleurs, l'équipe HÉF d'Irstea avait également acquis de nombreuses données depuis 2007 concernant l'étude des réseaux trophiques par l'approche des isotopes stables. La création de la base de données était donc aussi l'occasion d'enrichir le jeu de données acquis au cours des actions 33 et 20, par les données recueillies par l'équipe HÉF au cours de travaux antérieurs ou de collaborations. Au total, la base de données concerne **114 sites** de France continentale, pour **170 prélèvements** de diversité trophique (plusieurs sites ayant été prélevés à de multiples reprises). À ce jour, **9107 données isotopiques** sont recensées dans la base, sachant que certains résultats ne sont pas encore inclus. La base de données développée au cours de l'action 20 est donc conséquente et son ampleur est unique en France. Les données qu'elle contient doivent permettre d'apporter de solides éléments de réponse aux problématiques soulevées par le projet, même si elles restent limitées face à la multiplicité des situations observées en France continentale.

Une partie de l'action 20 a donc été consacrée à la construction de cette base de données qui est constituée de **4 tables** : 1 table « station » donnant les caractéristiques immuables du site étudié, 1 table « opération » recensant les informations liées à l'échantillonnage, 1 table « échantillon » donnant les signaux isotopiques (avec en option 1 table « correction » explicitant les différentes corrections effectuées pour chaque échantillon) et 1 table « analyses » décrivant les informations liées aux analyses isotopiques. Enfin, à ces tables pourront également s'ajouter des tables contenant des relevés de paramètres physiques (hauteur d'eau, vitesse de courant, température de l'eau), ou biologiques (listes faunistiques) qui sont déjà stockées par ailleurs par l'équipe HÉF d'Irstea. Devant l'ampleur de la collecte des différents types d'information et de l'harmonisation des données issues de différentes origines (travaux équipe HÉF, collaborations avec Irstea Aix-en-Provence, collaborations avec Irstea Lyon), l'établissement de la base de données n'est pas achevée. La table « échantillon » est complète à hauteur des données disponibles, la table « station » a été largement complétée (facteurs environnementaux naturels entièrement décrits, facteurs anthropiques décrits par l'occupation des sols) et les listes faunistiques du compartiment piscicoles ont également été collectées pour les sites pour lesquels elles étaient disponibles. Les données de température de l'eau ont aussi été recueillies pour la plupart et l'effort actuel porte sur une description approfondie des facteurs anthropiques caractérisant les sites (données physico-chimiques, données Carhyce).

Cette base de données qui est encore en cours d'élaboration a déjà eu l'occasion d'être utilisée pour la réalisation d'une étude sur la position trophique des espèces de poisson de France continentale (cf. Appui aux gestionnaires).

4.2. Transfert et valorisation

L'action 20 a accordé une attention particulière aux activités de transfert et de valorisation pour que les gestionnaires puissent se saisir des résultats du projet. Quatre activités ont été menées dans ce cadre : la participation à la rédaction de l'ouvrage « **Comprendre pour agir** », l'organisation de **séminaires de restitution** dans les délégations interrégionales de l'AFB, l'**appui aux gestionnaires** pour la mise en place du suivi des contaminants dans le biote et la rédaction d'**articles scientifiques**.

4.2.1. Comprendre pour Agir

Au cours de l'année 2016, une part importante de nos activités a été consacrée à la rédaction d'un ouvrage « Comprendre pour agir ». Après une réunion rassemblant l'ensemble des acteurs du projet « indicateurs fonctionnels » conduit par l'AFB, nous avons été en charge avec des collègues de l'université de Toulouse Paul Sabatier d'une partie consacrée à l'apport des isotopes stables pour le développement des indicateurs fonctionnels.

Avec nos collègues toulousains travaillant aussi sur les métriques isotopiques du réseau trophique, nous nous sommes coordonnés pour effectuer la synthèse de nos différents travaux. Fin novembre 2016, nous avons rendu à l'AFB une première version de ce chapitre consacré aux isotopes stables proposant une présentation introductive de l'outil isotopique, une description des trois projets et une synthèse des résultats obtenus, dans la perspective du développement d'indicateurs fonctionnels basés sur cet outil.

Fin 2016, nous avons participé à une nouvelle réunion de travail sur cet ouvrage dont la finalisation était prévue prochainement. La version actuelle du chapitre concernant les isotopes stables est disponible en annexe 1.

4.2.2. Séminaires de restitution en délégation interrégionale

Initialement, l'AFB devait organiser un séminaire national portant sur l'ensemble des projets de recherche concernant le développement d'indicateurs fonctionnels. Jusqu'à présent ce séminaire n'a pas pu avoir lieu. Or, nous avons à cœur de présenter nos résultats aux agents de l'AFB qui avaient participé à l'effort d'échantillonnage. En effet, au début de l'action 33, nous avons fait un séminaire de présentation du projet dans chacune des délégations interrégionales, ce que les agents avaient fortement apprécié. À cette occasion, ils avaient également exprimé le souhait d'avoir un retour sur les résultats du projet. C'est pourquoi, le séminaire national n'ayant pas lieu, nous avons proposé un séminaire de restitution du projet à chacune des délégations interrégionales de l'AFB.

Ces séminaires ont eu lieu à la fin de l'année 2017, dans les anciennes délégations interrégionales de l'AFB (avant la modification faisant suite à la création des nouvelles régions métropolitaines), car c'est sur leur périmètre que se sont déroulées les campagnes d'échantillonnage du projet. Cependant, la délégation de Compiègne n'a pas pu bénéficier d'une restitution orale en raison du départ de notre correspondant local. Partout ailleurs les échanges ont été très riches et au total une cinquantaine d'agents de l'AFB ont pu participer à ces séminaires. Les agents apprécient particulièrement ce genre de restitution et certains ont même suggéré de nouveaux sites à étudier. Les agents ont également émis le souhait d'avoir des informations concernant les sites de leur délégation. En réponse, nous joindrons au rapport une annexe spécifique à chaque délégation, lors de son envoi à nos correspondants locaux.

4.2.3. Appui aux gestionnaires – positions trophiques et suivi des contaminants dans le biote

Courant 2016, Olivier Perceval de l'AFB a sollicité notre expertise pour la détermination de la position trophique des poissons des cours d'eau français. En charge de la mise en place du suivi des contaminants dans le biote, il avait besoin de connaître la position trophique de 6 espèces de poissons (barbeau, brème, chevaine, gardon, perche et truite) pour évaluer leur niveau de contamination. Avec l'accord de Yorick Reyjol nous avons utilisé la base de données isotopiques pour répondre à sa demande. À cette occasion nous avons collaboré avec Marc Babut d'Irstea Lyon, que nous remercions pour nous avoir transmis de nouvelles données isotopiques qui sont venues enrichir notre base.

En 2017, Amel Harzallah a effectué son stage de M2 au sein de l'équipe HÉF afin de fournir des éléments de réponses concernant la détermination de la position trophique à l'aide des isotopes stables. Ce stage a permis d'étudier la faisabilité d'une telle approche et de fournir des recommandations pour son éventuelle mise en œuvre, comme la manière de calculer la ligne de base isotopique (cf. sélection des métriques isotopiques). Ce travail a également mis en évidence la variabilité des positions trophiques tant entre les espèces de poissons, qu'entre les individus d'une même espèce. Ce résultat suggère que l'utilisation de la position trophique moyenne de l'espèce au lieu de la position trophique réelle de l'individu engendre des erreurs dans l'évaluation de son niveau de contamination. Il semble donc qu'il soit préférable de déterminer la position trophique d'un individu, en même temps que les mesures de contaminants pour obtenir son niveau de contamination précis.

L'enjeu actuel pour les gestionnaires est de savoir si le surcoût lié à la détermination des positions trophiques permet des gains de précision indispensables au suivi de la contamination dans le biote.

Nous avons ainsi proposé de réaliser une analyse de sensibilité du niveau de contamination aux différentes sources d'erreur. L'objectif est de quantifier l'erreur liée à la variabilité des positions trophiques et de la comparer aux autres sources d'erreur. Ces résultats fourniront aux gestionnaires les éléments nécessaires pour établir leur stratégie dans le cadre du suivi des contaminants dans le biote.

4.2.4. Rédaction d'articles

Au cours de l'action 20, 2 articles ont été publiés. En 2016, notre article concernant l'effet du gradient amont-aval sur la diversité trophique a été publié par la revue « Aquatic Sciences ». En 2017, un article consacré à l'effet de l'occupation des sols a été publié en ligne par la revue « Environmental Science and Pollution Research ».

Actuellement, un article est en cours de soumission à la revue « Food webs ». Cet article passe en revue les différentes méthodes utilisées en écologie trophique et a été rédigé dans le cadre du groupe de recherche en écologie trophique GDR GRET. Un deuxième article est également à un stade bien avancé et fera l'objet d'une prochaine soumission à la revue « Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences ». Il porte sur la diversité des positions trophiques des poissons et examine comment elle s'organise en fonction de certains facteurs environnementaux (gradient amont-aval, climat, occupation des sols).

D'autres projets pourront également faire l'objet de publications au cours des prochaines années et il est évident que l'ampleur de la base de données isotopiques est propice à l'examen de multiples questions. En premier lieu, l'étude consacrée à l'analyse de sensibilité des niveaux de contamination doit faire l'objet d'une publication nous associant à nos collègues Olivier Perceval et Marc Babut. Par ailleurs, nous porterons nos efforts en priorité sur des articles exploitant les résultats obtenus au cours des actions 33 et 20. L'étude des facteurs environnementaux naturels et anthropiques est à ce jour la plus avancée et nous semble la plus aboutie pour faire l'objet d'une prochaine publication. À moyen terme, La comparaison entre les métriques du réseau trophique et les bioindicateurs actuels nous semble être également un point important à valoriser. De même l'étude de l'interaction entre valeur moyenne et variabilité de la température sur la diversité doit faire l'objet d'une publication. Enfin, nous avons toujours le projet d'une note méthodologique concernant l'utilisation des isotopes stables et des modèles de mélange et les résultats obtenus sur les relations muscles-nageoires sont aussi susceptibles d'être publiés.

5. Principaux résultats

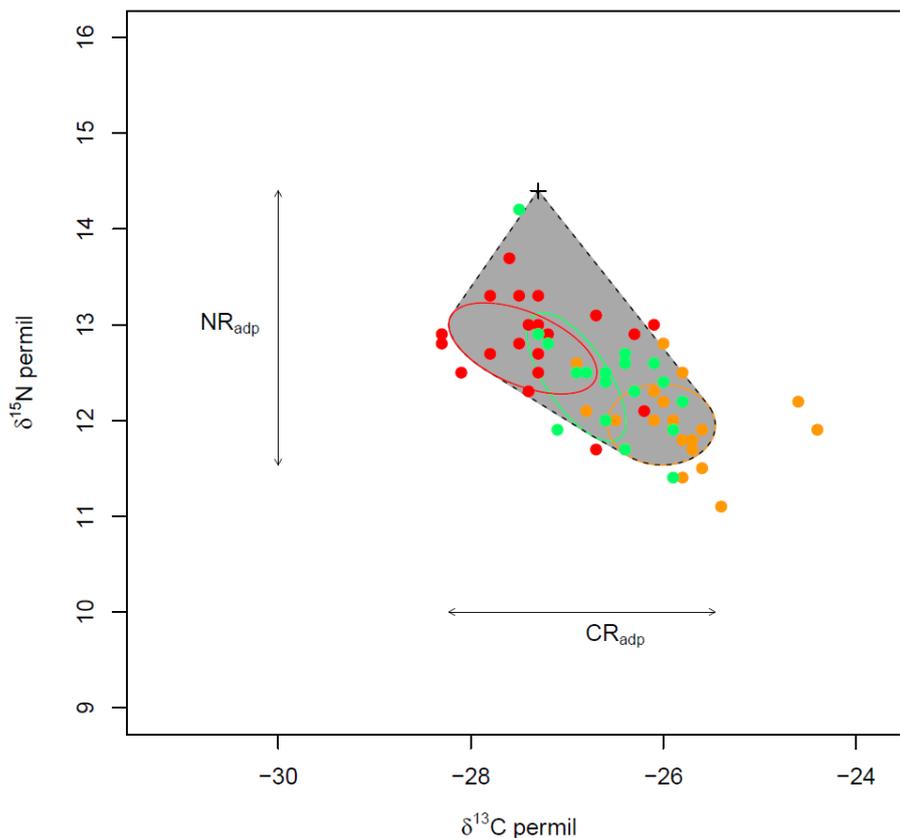
Le projet réalisé dans le cadre des actions 33 et 20 a produit un travail considérable en termes de recueil de données, certaines étant toujours en cours d'acquisition. En contrepartie, le traitement des problématiques du projet n'est pas aussi avancé que nous l'aurions souhaité. Ainsi, les **résultats** que nous présentons restent **encore partiels**, au sens où ils ne concernent le plus souvent qu'une partie de la base de données isotopiques. Notamment, les résultats sont souvent centrés sur la diversité trophique du **compartiment piscicole**, car les données isotopiques des autres compartiments (sources de matière organique, macroinvertébrés) ont été disponibles assez tardivement. Ils permettent toutefois de poser les **premiers jalons** en vue d'un potentiel développement d'indicateurs fonctionnels.

5.1. Sélection de métriques isotopiques

Durant le projet, nous avons poursuivi la mise au point de métriques isotopiques permettant de quantifier la diversité trophique. Ce travail s'articule autour de quatre points principaux : relations entre **signaux isotopiques des muscles** et des **nageoires**, établissement de **nouvelles métriques**, adaptation du calcul de la **ligne de base isotopique**, **tests des métriques**.

Concernant le premier point, les données nouvellement acquises ont permis de **confirmer les relations existantes** entre les signaux isotopiques des nageoires et des muscles de poisson (cf. Hette-Tronquart et al. 2012) et à les étendre à un plus grand nombre d'espèces (20) et à une plus grande surface géographique (France continentale). Or, ces relations sont indispensables pour pouvoir étudier la diversité trophique des poissons à partir de nageoires, car le muscle reste le tissu de référence utilisé en écologie trophique. Ce travail a notamment fait l'objet du stage de Victor Mougin (niveau M1), accueilli au sein de l'équipe HÉF du 6 juin au 26 août 2016. Le stage a montré que les relations obtenues dès 2012 permettent d'estimer les signaux isotopiques du muscle à partir de ceux des nageoires en faisant une erreur moyenne de 0.7 ‰. Avec les nouvelles données, les relations sont améliorées, mais seulement de façon anecdotique (erreur moyenne de 0.65 ‰). Ces erreurs semblent s'expliquer principalement par 2 facteurs : un effet site et un effet espèce. Ces résultats suggèrent que la relation muscles-nageoires n'est pas indépendante du site de prélèvement des poissons et que la relation varie en fonction de l'espèce considérée. Plus précisément l'effet site ne semble pas être un effet géographique, car il n'a pas pu être pris en compte par les coordonnées géographiques des sites. Cela suggère que l'effet site est dû à des facteurs environnementaux. Concernant l'effet espèce, la phylogénie n'a pas permis d'expliquer les différences observées entre espèces. Cette étude a confirmé que les relations muscles-nageoires permettent d'estimer les signaux isotopiques du muscle à partir de ceux de nageoire. En fonction du niveau de précision requis, un modèle général valable pour toutes les espèces et toute la France métropolitaine, ou un modèle spécifique valable pour l'espèce considérée sur un site d'étude doit être privilégié.

Concernant le deuxième point, le développement de métriques s'est essentiellement attaché à **proposer des améliorations de métriques** existantes. En effet, la panoplie de métriques isotopiques disponibles est déjà conséquente, allant des métriques de position trophique (par exemple, longueur de chaîne trophique, Post 2002) aux métriques isotopiques fonctionnelles (Rigolet et al. 2015 ou Cucherousset & Villéger 2015), en passant par les métriques de l'espace isotopique (par exemple Layman et al. 2007). Toutefois, la plupart de ces métriques ne peuvent pas s'appliquer dans le cas d'une communauté ne comprenant qu'une ou deux espèces. Nous avons donc adapté ces métriques pour qu'elles puissent également se calculer dans ces cas particuliers. Le principe de cette adaptation a été publié en 2017, en matériel supplémentaire de l'article portant sur l'occupation des sols (cf. annexe 2). En plus de cette adaptation, nous avons aussi proposé une nouvelle métrique basée sur l'espace isotopique occupé par les espèces d'une communauté. L'idée de cette métrique est venue du fait que la plupart des métriques de l'espace isotopique considère que celui-ci est occupé de façon continue, alors que les espaces isotopiques de chacune des espèces de la communauté peuvent être disjoints. Cette nouvelle métrique essaie de mieux prendre en compte cet aspect en faisant le ratio entre l'union des espaces occupés par chacune des espèces et le polygone convexe adapté de la communauté (Figure 5). Cette métrique peut alors s'interpréter comme le rapport entre la diversité trophique à laquelle l'écosystème a le plus souvent recours et la diversité trophique minimale à laquelle l'écosystème a accès. Pour mémoire, nous avons aussi développé un cadre conceptuel (cf. annexe 3) qui permet d'identifier la stratégie alimentaire dominante dans une communauté, en couplant les résultats de 2 métriques de l'espace isotopique de la communauté (l'aire de cet espace et le chevauchement moyen des espaces isotopiques spécifiques). Il a été publié en même temps que l'article portant sur l'effet du gradient amont-aval (Hette-Tronquart et al. 2016).

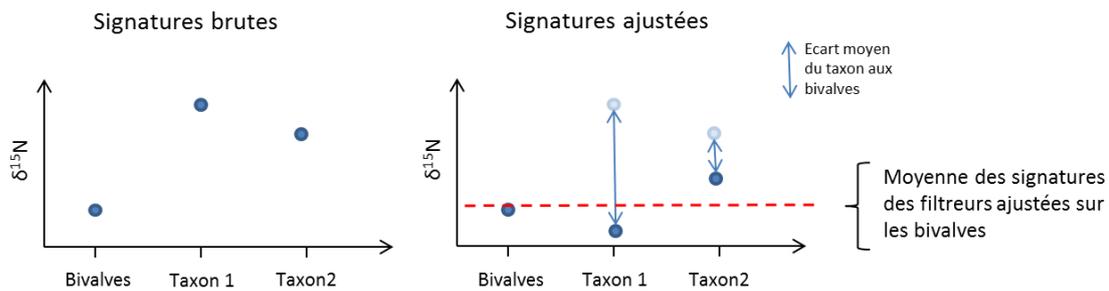


© Nicolas Hette-Tronquart

Figure 5 : Calcul de la nouvelle métrique à partir de l'aire du polygone convexe adapté (cf. annexe 1) en gris sur le graphique. La nouvelle métrique est égale au rapport entre l'aire de l'union des ellipses standard de chaque espèce (en couleur rouge, vert et orange) et l'aire du polygone (gris).

Par ailleurs, dans le cadre du calcul des métriques de position trophique, nous avons été amenés à **proposer une méthode de calcul de ligne de base** applicable à l'ensemble des sites de notre base de données. Pour mémoire, les métriques de position trophique ne concernent que la dimension verticale de la diversité trophique et donc les isotopes de l'azote. Selon le principe de l'utilisation des isotopes stables en écologie trophique, le signal isotopique en azote s'enrichit de 3,4 ‰ à chaque interaction trophique, à partir du signal isotopique à la base du réseau trophique, encore appelé ligne de base. On en déduit que la position trophique d'un organisme est simplement égale à l'écart entre son signal isotopique et celui de la ligne de base, divisé par 3,4. Le calcul des métriques de position trophique implique donc la détermination de la ligne de base. La solution la plus naturelle consisterait à mesurer les signaux isotopiques des sources de matière organique qui sont à la base du réseau trophique. Ces signaux sont cependant très variables dans l'espace et dans le temps ce qui rend peu fiable la ligne de base obtenue avec ces signaux (Cabana & Rasmussen, 1996 ; Vander Zanden & Rasmussen, 1999). La solution couramment retenue dans la littérature consiste à utiliser des consommateurs primaires pour déterminer la ligne de base (e.g. Jardine et al. 2014). Le signal isotopique de ces organismes est en effet plus stable, intégrant la variabilité spatio-temporelle observée pour les signaux isotopiques des sources de matière organique. L'idéal est évidemment d'utiliser le même consommateur primaire à chaque site étudié pour garantir une comparaison cohérente, mais cela est vite irréalisable lorsque les sites sont soumis à des facteurs environnementaux différents. Au cours du stage d'Amel Harzallah, nous avons donc mis au point une méthode de détermination de la ligne de base pouvant s'appliquer à l'ensemble des sites de notre base de données à partir de la solution proposée par Anderson & Cabana (2007). La détermination est basée sur les taxons dont le mode d'alimentation est la filtration. Elle s'effectue en trois temps. Premièrement, on détermine le **signal des bivalves filtreurs** sur les prélèvements où ils sont présents (78 sur 176 prélèvements). Deuxièmement, on compare les signaux des bivalves aux signaux de chacun des **autres taxons filtreurs** pour l'ensemble des prélèvements où ils sont présents conjointement. Si la différence est significative, les signaux des autres taxons filtreurs sont ajustés au niveau des bivalves (cf. Figure 6) sur tous les prélèvements où ces autres taxons sont présents. Cela permet d'obtenir un signal « bivalve théorique » sur les sites où il n'y en avait pas. On fait ensuite la moyenne des signaux des taxons filtreurs pour obtenir la **ligne de base** sur 140 prélèvements. Troisième et dernière étape, on **modélise** (régression linéaire) le signal de la ligne de base à partir des signaux des **consommateurs primaires** dont le mode d'alimentation n'est pas la filtration. Ce modèle établi sur la base des 140 prélèvements pour lesquels la ligne de base a pu être estimée est hautement

significatif et explique 91 % de la variance observée. Avec ce modèle, on peut enfin obtenir une estimation de la ligne de base pour les 36 prélèvements pour lesquels aucun taxon filtreur n'était présent.



© Jérôme Belliard

Figure 6 : Principe de calcul de la ligne de base isotopique. Ajustement des signaux isotopiques des autres taxons filtreurs au niveau des bivalves.

Parallèlement à ces trois aspects, nous avons utilisé la base de données isotopique pour **tester les différentes métriques** à notre disposition. En particulier, nous avons examiné les réponses des métriques liées aux positions trophiques, à l'espace isotopique (aire du polygone adaptée, variabilités en carbone et azote, distance au plus proche voisin...) ou à des métriques issues de l'écologie fonctionnelle (cf. Cucherousset & Villéger 2015). Pour chacune des métriques, nous avons étudié l'effet des facteurs environnementaux naturels et anthropiques. Ces résultats n'ont pour l'instant pas permis de déterminer quelles métriques étaient les plus aptes à servir de base au développement d'un nouvel indicateur de l'état écologique. En effet, les liens statistiques avec les facteurs environnementaux diffèrent et concernent des métriques de la diversité trophique différentes selon la nature des facteurs. Cette observation reste à confirmer par les travaux en cours, mais semble en accord avec les travaux de nos collègues de l'Université Paul Sabatier qui ont observés pour des plans d'eau (projet ISOLAC) que certaines métriques étaient spécifiques à certains types de pression, tandis que d'autres métriques étaient plus intégratives et reliées à plusieurs types de pression. La sélection des métriques n'est donc pas encore finalisée et se poursuit en lien avec l'étude comparative entre métriques isotopiques et bioindicateurs actuels.

5.2. Effet des facteurs environnementaux

Dans la perspective de long terme d'utiliser la diversité trophique comme indicateur de l'état écologique des cours d'eau, l'examen des liens entre patrons de diversité trophique et gradients de facteurs environnementaux, qu'ils soient naturels ou anthropiques, est indispensable. Durant l'action 20, nous avons donc poursuivi le travail commencé par l'action 33 concernant les liens entre diversité trophique et facteurs environnementaux. En particulier nous avons commencé à exploiter l'ensemble de la base de données isotopique pour étudier l'effet des facteurs environnementaux sur les métriques de position trophique. Pour les autres métriques, les résultats ne sont pour l'instant basés que sur des sous-jeux de données.

5.2.1. Facteurs naturels

Trois principaux facteurs naturels ont été sélectionnés (cf. Objectif et problématiques) : le gradient amont-aval, la géologie et le climat. En raison de différence dans la disponibilité des données décrivant ces facteurs, nous avons bien avancé sur les relations entre diversité trophique et gradient amont-aval. L'influence du climat commence également à être mieux cernée en prenant comme variables descriptrices la température et/ou l'altitude. En revanche, le facteur « géologie » n'est pas encore décrit assez finement pour fournir des conclusions fiables quant à son effet sur la diversité trophique.

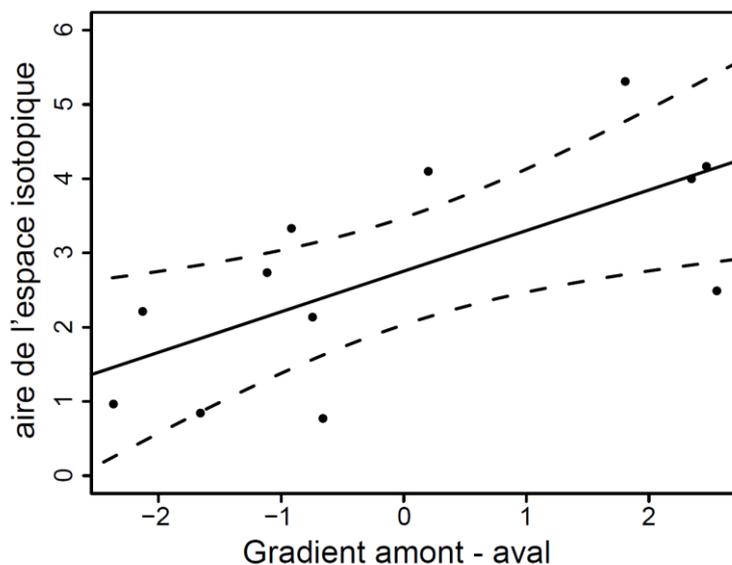
Gradient amont-aval :

L'effet du gradient amont-aval sur la diversité trophique est indéniable. Que l'on considère le sous-jeu de données de l'Orge (gradient restreint à des surfaces de bassin versant allant de 1 à 950 km²), ou l'ensemble des sites de la base de données (surface de bassin versant allant de 1 à 12000 km²), **la diversité trophique** de la communauté piscicole **augmente** toujours significativement **de l'amont à l'aval** des cours d'eau (cf. par exemple Figure 7). De plus ce résultat se retrouve tant avec les métriques de l'espace isotopique, qu'avec les métriques de position trophique. Cette observation est fondamentale, car elle souligne que la diversité trophique d'un écosystème lotique dépend de son contexte longitudinal (c.à.d. sa position dans le gradient

amont-aval). Cela implique que toute mesure de la diversité trophique doit obligatoirement être **évaluée relativement à son contexte longitudinal** et que les métriques de diversité trophique n'ont **pas une valeur absolue**.

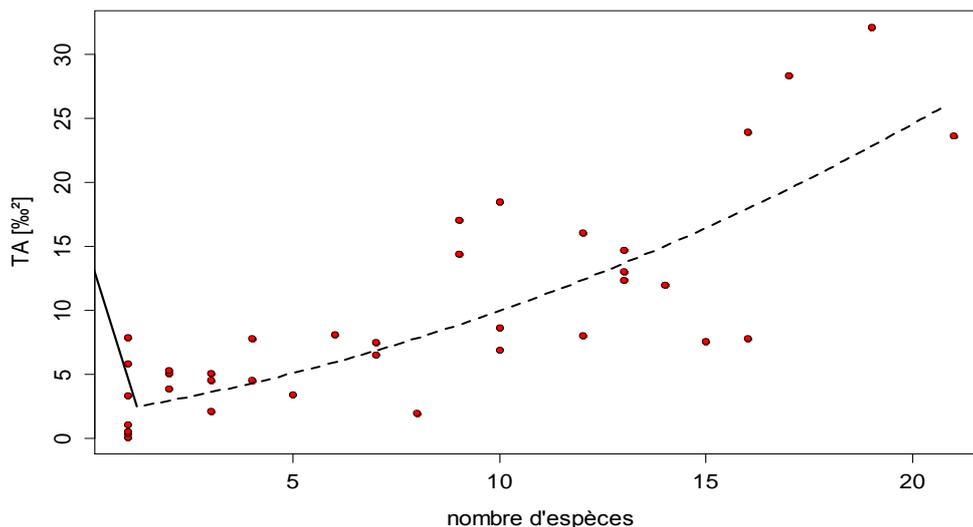
Ce résultat confirme le **caractère déterminant du gradient amont-aval** dans le fonctionnement général des cours d'eau (par exemple Petts & Callow, 1996) mais aussi sur leur fonctionnement trophique (comme nous avons pu le montrer sur les cours d'eau du bassin versant de l'Orge, Hette-Tronquart et al. 2016). Il est en accord avec l'hypothèse que la taille des écosystèmes influence positivement la diversité trophique (e.g. Sabo et al. 2009). Cependant, il faut noter que le gradient amont-aval couvert par les sites de notre base de données ne va pas jusqu'aux très grands milieux. Il n'est donc **pas prudent d'extrapoler** l'augmentation de la diversité trophique jusqu'à de tels sites. D'ailleurs, certains concepts théoriques, tels que le « river continuum concept » (Vannote et al. 1980), prédisent que la diversité trophique des communautés de macroinvertébrés atteint un maximum pour les sites intermédiaires du gradient amont-aval.

Par ailleurs, l'effet du gradient amont-aval **semble fortement lié à la richesse spécifique** de la communauté. En effet, nous avons observé que le nombre d'espèces de poissons augmentait très significativement de l'amont à l'aval et parallèlement, la diversité trophique de la communauté piscicole augmentait significativement avec le nombre d'espèces de poissons présentes dans la communauté (cf. Figure 8). Cela reflète bien que la diversité trophique intègre à la fois les dimensions structurelle (modification des membres de l'écosystème) et fonctionnelle (modification des interactions entre les membres de l'écosystème), la dimension structurelle étant prépondérante dans le cas du gradient amont-aval. Cependant, cette relation a surtout été observée pour des métriques liées à l'espace isotopique qui sont connues pour être particulièrement sensibles au nombre d'espèces présentes dans la communauté. Cela souligne les limites potentielles de telles métriques dans le cadre de leur utilisation pour développer des indicateurs fonctionnels de l'état écologique, car elles semblent accorder trop d'importance à la dimension structurelle. Pour utiliser ces métriques, une solution peut être de les adapter afin de réduire l'influence du nombre d'espèces dans la communauté, comme c'est le cas pour la nouvelle métrique que nous avons développée et qui est égale au rapport entre la diversité trophique à laquelle l'écosystème a le plus souvent recours et la diversité trophique minimale à laquelle il a accès.



© Nicolas Hette-Tronquart

Figure 7 : Évolution de l'aire de l'espace isotopique occupé par la communauté de poissons de l'amont (valeur négative) à l'aval (valeur positive). Les courbes représentent le modèle linéaire (p -value = 0.014, $R^2 = 0.47$) et son intervalle de confiance que nous avons établis entre les deux variables.



© Nicolas Hette-Tronquart

Figure 8 : Évolution de l'aire de l'espace isotopique (TA) en fonction du nombre d'espèces présentes dans la communauté de poisson. Le modèle est significatif et explique 66% de la variation observée.

Géologie :

Avec les données dont nous disposons actuellement pour décrire la géologie (variable factorielle à 2 niveaux), aucune relation significative avec la diversité trophique n'a été trouvée. Ce résultat est plutôt surprenant et contraire à nos hypothèses. Pour le confirmer, nous avons commencé à recueillir de nouvelles données physico-chimiques, permettant une description plus fine de la géologie. Cela mettra peut-être en évidence des relations entre ces variables et les métriques isotopiques, mais ces premiers résultats montrent déjà que le rôle de la géologie n'est pas prépondérant.

Climat :

L'action 20 a permis d'améliorer la qualité des données climatiques dont nous disposons. Un effort particulier a ainsi été porté sur la thermie de l'eau. Ces données sont maintenant disponibles sur environ la moitié des sites de la base de données et permettent une meilleure description des régimes thermiques. Par ailleurs, des données de température de l'air issues de la base météorologique SAFRAN ont également été recueillies. Un travail de modélisation de la thermie de l'eau à partir de ces données SAFRAN est en cours pour pouvoir compléter les chroniques parfois partielles dont nous disposons. Grâce à ces données thermiques et à des données d'altitude, nous avons commencé à examiner les relations entre climat et diversité trophique.

De manière générale nous observons un effet de la température et/ou de l'altitude sur la diversité trophique (il est souvent difficile de dissocier ces deux variables, car elles sont fortement corrélées). La relation est toutefois moins forte que dans le cas du gradient amont-aval et elle n'est pas toujours significative selon les métriques considérées. Dans la majorité des cas, l'augmentation de la température se traduit par une diminution de la diversité trophique, qu'elle soit mesurée par des métriques de l'espace isotopique ou par des métriques de position trophique. Au niveau spécifique, les températures élevées s'accompagnent généralement de positions trophiques plus faibles, excepté dans de rares cas, comme pour le chevaine où c'est l'effet inverse qui se produit.

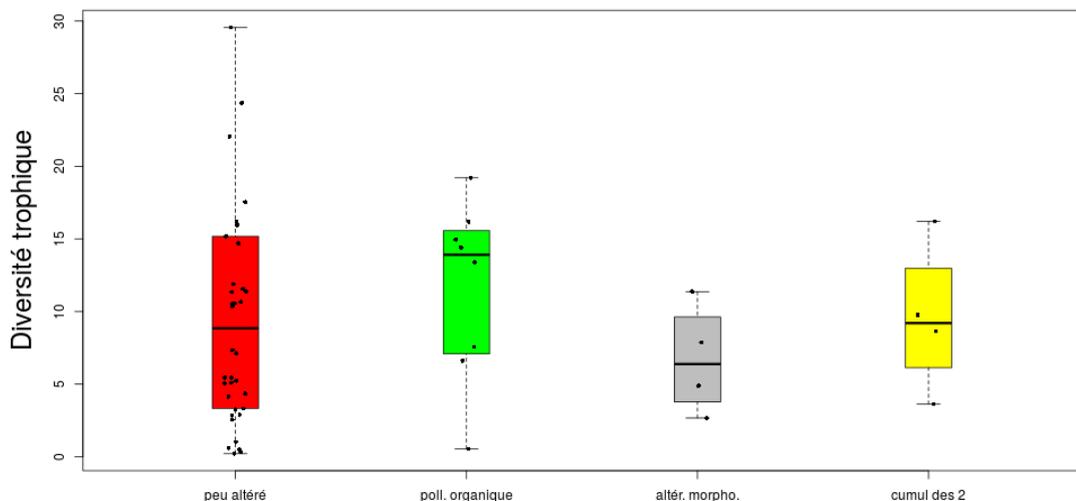
En plus de cette relation entre valeur de la température et diversité trophique, il semble que la variabilité de la température soit aussi un facteur influençant la diversité trophique. En utilisant un sous jeu de données, nous avons en effet montré à l'aide des métriques de position trophique qu'une plus forte variabilité de la température réduisait la diversité trophique (cf. Hette-Tronquart et al. 2013). Ce résultat reste à étendre à l'ensemble du jeu de données, mais il montre déjà que la diversité trophique est aussi sensible aux perturbations d'origine naturelle. Il est en accord avec de précédents résultats (e.g. McHugh et al. 2010) venant étayer l'hypothèse de stabilité des écosystèmes. Par ailleurs, il suggère que l'effet de la température sur la diversité trophique est complexe et dépend potentiellement d'une interaction entre la valeur de la température et sa variabilité. Les données que nous avons collectées durant le projet doivent justement permettre l'étude plus précise de cette interaction.

5.2.2. Facteurs anthropiques

Jusqu'à présent l'effet des pressions anthropiques a été abordé de deux manières. D'une part nous avons examiné l'effet de deux types d'altération (altération morphologique et/ou pollution organique) sur la diversité trophique et d'autre part nous avons étudié les liens potentiels entre l'occupation des sols et la diversité trophique. Au cours de l'action 20, nous n'avons pas autant progressé que ce que nous souhaitons concernant la description des altérations retenues par des variables quantitatives considérées. L'effet des deux types d'altération a donc été testé en utilisant une variable factoriel à 4 niveaux (1 : référence ou site peu anthropisé, 2 : pollution organique, 3 : altération morphologique, et 4 : altération couplant les deux pressions précédentes) décrite pour 54 sites de la base de données. En revanche, les données d'occupation des sols, basées sur CorineLandCover, ont pu être disponibles plus rapidement et l'effet de l'occupation des sols a pu être examiné avec l'ensemble de notre base de données.

Altération morphologique et pollution organique :

Même si les conclusions de l'étude concernant deux types d'altération restent limitées, les résultats obtenus semblent indiquer que la diversité trophique réagit différemment suivant les facteurs anthropiques s'exerçant sur le cours d'eau. Par exemple, avec les métriques de l'espace isotopique, nous observons que la diversité trophique semble plus élevée pour les sites soumis à des pollutions organiques, tandis qu'elle semble plus faible sur les sites altérés pour la morphologie (cf. Figure 9). Ces résultats laissent penser que les métriques du réseau trophique répondent différemment selon le type de pression anthropique. Certaines métriques du réseau trophique pourraient ainsi avoir un caractère diagnostique et présenter des réponses permettant de déterminer le type de pression anthropique s'exerçant sur le cours d'eau. Cependant les différences restent faibles et nous espérons les améliorer en caractérisant plus finement les pressions anthropiques s'exerçant sur nos sites, notamment en employant des variables continues et non plus factorielles.



© Nicolas Hette-Tronquart

Figure 9 : Distribution de la diversité trophique selon le degré d'altération anthropique.

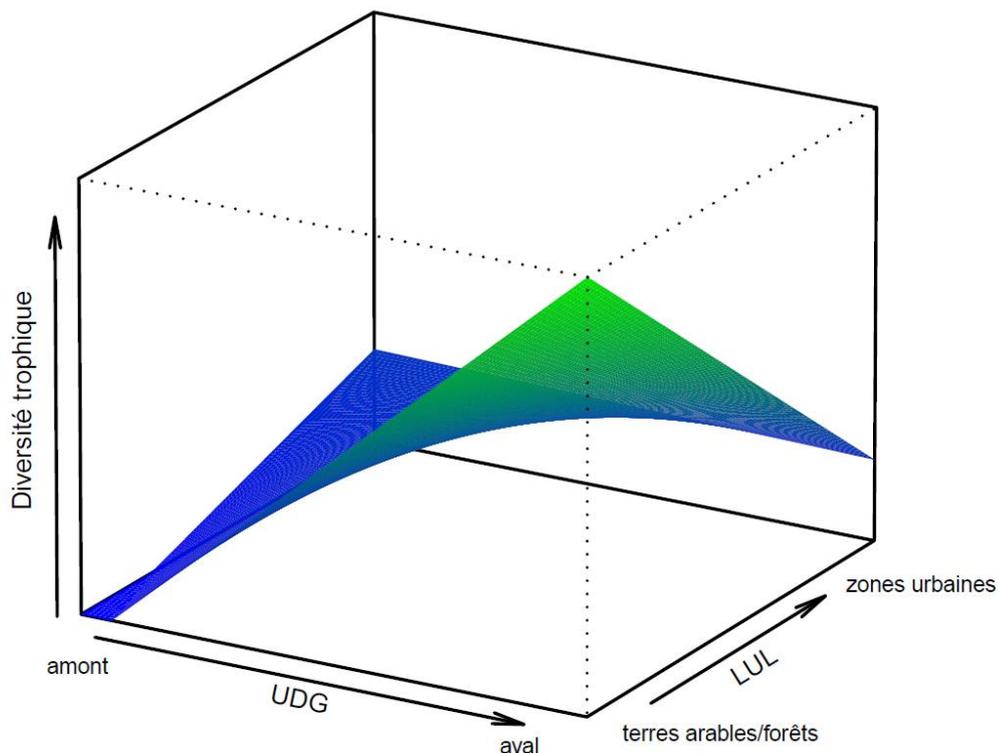
Occupation des sols :

Pour examiner les relations entre diversité trophique et occupation des sols, nous avons considéré deux échelles spatiales : une échelle locale (zone tampon de 100 m de large et 2 km de long de chaque côté du cours d'eau) et une échelle régionale (bassin versant drainé par le cours d'eau en amont du site étudié). Les hypothèses sous-jacentes sont les suivantes : à l'échelle locale, l'occupation des sols est susceptible d'influencer la diversité trophique via la modification de la diversité des habitats ou les apports de matière organique allochtone ; à l'échelle régionale, c'est principalement l'impact de l'occupation des sols sur la qualité de l'eau qui pourrait altérer la diversité trophique. À ces deux échelles l'occupation des sols a été décrite selon 4 modes principaux : zone forestière/boisée, zone en eau, zone agricole et zone urbaine/artificialisée.

Nos observations confirment l'influence de l'occupation des sols sur la diversité trophique. Nous avons ainsi trouvé des relations significatives à la fois avec des métriques de l'espace isotopique et des métriques de position trophique. L'occupation des sols semble donc être un facteur

déterminant pour la diversité trophique. Toutefois, les relations observées sont moins fortes et expliquent moins de variance de la diversité trophique que celles établies avec le gradient amont-aval. De plus, nos observations ne permettent pas de conclure sur la prédominance de l'une ou l'autre des échelles spatiales à laquelle l'occupation des sols est évaluée. En effet, les échelles considérées sont différentes suivant les jeux de données et les métriques utilisés. Par exemple, pour un sous-jeu de données du bassin versant de l'Orge, c'est l'échelle locale de l'occupation des sols qui est reliée à la diversité trophique (cf. Figure 10 extraite de Hette-Tronquart et al. 2017). En revanche, avec l'ensemble de la base de données, c'est plutôt l'échelle régionale qui est en jeu. De même, il n'est pas possible de déduire de nos observations qu'un mode d'occupation des sols est plus déterminant qu'un autre. En fonction des données et des métriques, cela peut-être un gradient de zone agricole à zone forestière qui est relié à la diversité trophique ou simplement un gradient de zone urbaine (comme sur la Figure 10). Enfin, l'effet de l'occupation des sols est susceptible d'être complexe, car il peut interagir avec d'autres facteurs environnementaux. Comme l'illustre la Figure 10, nous avons ainsi montré que l'effet de l'occupation des sols pouvait être différent suivant le contexte longitudinal du site étudié.

Ces résultats suggèrent que la diversité trophique est sensible à l'occupation des sols, même si l'état actuel de nos travaux ne nous permet pas de préciser cette relation. Il est également possible que l'occupation des sols ne soit pas un descripteur de pression suffisamment précis pour pouvoir observer des relations plus fortes avec la diversité trophique. En effet, une même occupation des sols peut être associée à des niveaux de pressions diverses et un site en zone urbaine peut parfois être moins altéré qu'un site en zone forestière.



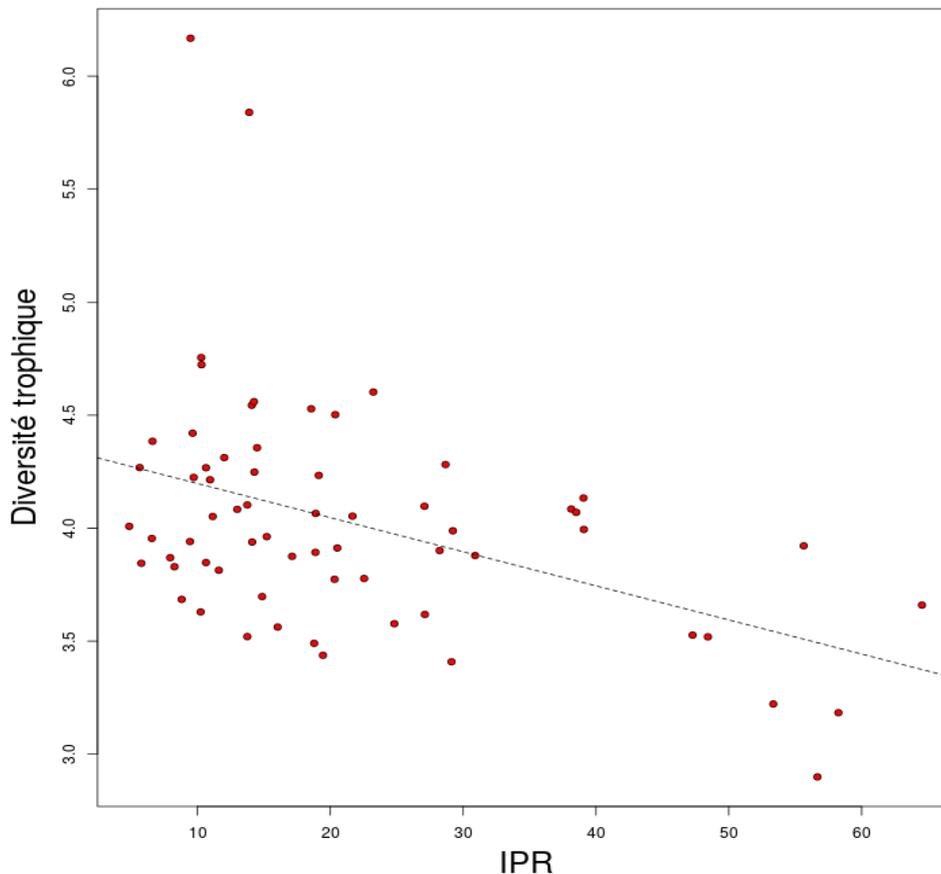
© Nicolas Hette-Tronquart

Figure 10 : Évolution de la diversité trophique mesurée par l'aire de l'espace isotopique en fonction du gradient amont aval (UDG) et de l'occupation des sols à l'échelle locale (LUL).

5.3. Comparaison avec les bioindicateurs actuels

Parallèlement à la sélection des métriques isotopiques et à l'examen des facteurs environnementaux, nous avons commencé la comparaison des métriques isotopiques avec les bioindicateurs actuels. Les retards accumulés suite aux pannes de notre équipement réalisant les analyses isotopiques ont empêché de conduire un examen approfondi de cette problématique au cours de l'action 20. À ce stade, les résultats proposés sont donc préliminaires et ne concernent que la comparaison avec le bioindicateur IPR. Nous avons, en effet, privilégié le compartiment piscicole, pour lequel les données étaient disponibles en premier.

Les résultats obtenus montrent une certaine cohérence entre la diversité trophique et l'IPR. La diversité trophique a ainsi tendance à être maximale sur les sites possédant le meilleur état écologique selon l'IPR (cf. exemple de la Figure 11). Cependant la relation est faible suggérant que les informations fournies par la diversité trophique ne sont pas identiques à celles apportées par l'IPR. Il y aurait donc une certaine complémentarité entre la diversité trophique et l'IPR.



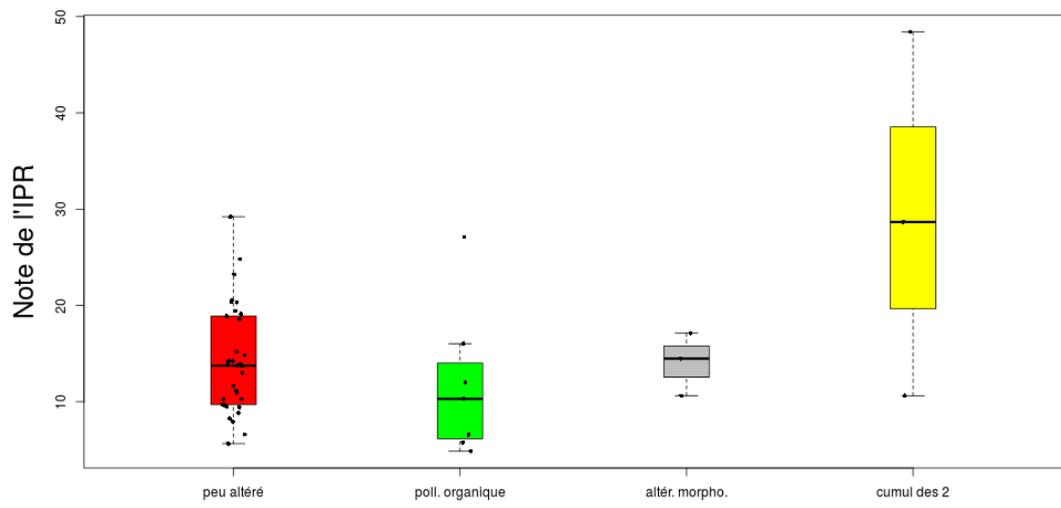
© Nicolas Hette-Tronquart

Figure 11 : Évolution de la diversité trophique mesurée par la longueur de chaîne trophique en fonction de la note de l'IPR sur 65 sites de notre base de données. Plus les notes de l'IPR sont élevées, plus l'état écologique du cours d'eau est dégradé.

Les résultats obtenus pour l'IPR sur 46 sites de notre base de données confirment également le besoin de mieux caractériser les pressions s'exerçant sur nos sites. Comme le montre la Figure 12, l'IPR ne se semble vraiment se dégrader que pour les sites soumis aux deux types d'altération. Par ailleurs, des sites classés comme peu altérés ont une note IPR traduisant un état écologique dégradé. Ce manque de précision de la caractérisation des altérations peut donc expliquer, au moins en partie, l'absence de relation forte avec les métriques de diversité trophique. Toutefois, si cette tendance se confirmait, cela pourrait aussi témoigner qu'un site soumis à un seul type d'altération (morphologique ou organique dans notre cas) n'est pas soumis à un niveau de pression suffisant pour dégrader son évaluation par l'IPR. Dans ce cas, il serait intéressant d'examiner si les métriques de diversité trophique sont plus sensibles que l'IPR et sont déjà perturbées par un seul type d'altération.

Cependant, l'examen des relations avec l'occupation des sols ne semble pas confirmer cette hypothèse, car l'IPR répond plus fortement au mode d'occupation des sols que les métriques de diversité trophique. En effet, le taux de zones urbaines sur le bassin versant permet d'expliquer significativement près de la moitié de la variance observée de l'IPR, ce qui n'est pas le cas pour les métriques de diversité trophique.

Pour l'instant, l'état d'avancement de cette problématique ne permet pas de conclure quant à la complémentarité des métriques de diversité trophique et des bioindicateurs actuels. Le travail doit se poursuivre, notamment en considérant d'autres bioindicateurs que l'IPR et de meilleurs descripteurs des facteurs environnementaux.



© Nicolas Hette-Tronquart

Figure 12 : Distribution des notes de l'IPR selon le degré d'altération anthropique (46 sites).

6. Conclusion et perspectives

Au terme de l'action 20, une base de données isotopique unique en France, portant sur les réseaux trophiques de 114 cours d'eau a été constituée. Sa création a nécessité un effort d'échantillonnage et d'acquisition de données considérable qui n'aurait pas été possible sans le concours des agents de l'AFB, que nous tenons à remercier. Cette base de données est un acquis d'une grande valeur offrant de nombreuses perspectives de recherche, en premier lieu desquelles le développement d'indicateur fonctionnel de l'état écologique. Dans cette optique, le projet des actions 33 et 20 a permis de poser les premiers jalons de ce travail.

Grâce aux résultats obtenus, le projet a permis de montrer que la quantification de la diversité trophique par l'analyse des isotopes stables était pertinente et réalisable, même à une échelle aussi large que celle de la France continentale. En ce sens, un protocole d'échantillonnage, des métriques isotopiques de la diversité trophique ainsi que des méthodes de calcul ont été développés qui pourront être utilisés par les gestionnaires si cette approche devait être retenue pour le développement d'indicateurs fonctionnels.

Les résultats ont confirmé que les métriques isotopiques de la diversité trophique intègrent à la fois des aspects structurels et fonctionnels de l'écosystème. À ce titre, les métriques de diversité trophique répondent au premier objectif de mieux rendre compte des aspects fonctionnels de l'écosystème. L'intégration des aspects structurels est un atout qui peut permettre de développer un indicateur global de l'état écologique. Toutefois, les aspects structurels peuvent parfois masquer des modifications du fonctionnement biologique et un outil trop intégrateur peut détériorer sa sensibilité.

Pour l'instant, les résultats ont montré que les métriques de la diversité trophique étaient sensibles aux facteurs environnementaux naturels, au premier rang desquels le gradient amont-aval. La diversité trophique ne peut donc pas s'envisager en dehors de son contexte longitudinal. Le facteur climatique et particulièrement la température entraînent aussi des modifications des métriques de diversité trophique, mais dans une moindre mesure. Il reste maintenant à compléter l'étude de l'effet des facteurs environnementaux naturels par l'examen des relations entre les métriques et la géologie.

En outre, la diversité trophique est aussi sensible aux perturbations, qu'elles soient d'origine naturelle ou anthropique. Les métriques de diversité trophique sont ainsi affectées par la variabilité de la température (perturbation naturelle) et par l'occupation des sols (traduction indirecte des pressions anthropiques). Elles semblent également modifiées directement par deux types de pression anthropique : l'altération de la morphologie du cours d'eau et la pollution organique. Cette sensibilité aux perturbations est néanmoins moins forte que la sensibilité aux facteurs environnementaux naturels. Une meilleure description des perturbations permettra peut-être d'améliorer leurs relations avec les métriques de diversité trophique.

À la fin de l'action 20, l'apport des métriques de diversité trophique par rapport aux bioindicateurs actuels n'a pas pu être évalué. Les premiers éléments obtenus semblent montrer une cohérence et une complémentarité potentielle entre la diversité trophique et les bioindicateurs. Les données maintenant disponibles doivent permettre de clarifier ce point rapidement.

Les jalons posés par les actions 33 et 20 sont positifs, puisqu'ils montrent que les métriques de diversité trophiques remplissent petit à petit les pré-requis indispensables au développement d'un indicateur fonctionnel. Si le chemin d'un tel développement devait être pris, il est évident que de nouveaux points incontournables devront être abordés dans le cadre de futures actions. Par exemple, il sera nécessaire d'effectuer des suivis temporels de la diversité trophique pour évaluer sa variabilité temporelle, mais aussi pour estimer la rapidité de sa réponse à d'éventuels changements environnementaux (intensification des pressions anthropiques ou au contraire mise en œuvre d'actions de restauration). Des suivis longitudinaux pour mieux cerner la dimension spatiale de la diversité trophique doivent aussi être envisagés. Toutefois, avant de relancer des campagnes d'échantillonnages et d'analyses conséquentes, il est primordial de pouvoir clarifier certaines questions, comme l'apport des métriques de diversité trophique par rapport aux bioindicateurs actuels. Cela pourra être fait en poursuivant l'exploitation de la base de données constituée au cours de ce projet. C'est seulement à la condition que les métriques de diversité trophique apportent une information complémentaire, exploitable par les gestionnaires, qu'un développement d'un nouvel indicateur basé sur ces métriques doit être envisagé.

7. Glossaire

Bioindicateurs : Également appelés indicateurs biologiques, ils se basent sur les communautés biologiques pour mesurer l'état écologique d'un écosystème ou encore mesurer l'impact de l'homme sur l'écosystème

Biotope : Ensemble d'éléments caractérisant un milieu physico-chimique déterminé et uniforme qui héberge une flore et une faune spécifiques

Chaîne trophique/chaîne alimentaire : relative à un organisme. ensemble des êtres vivants et des relations alimentaires (chaque espèce mangeant la précédente) menant à un organisme donné depuis les sources de matière organique. s'emploie aussi pour un écosystème et correspond à la chaîne alimentaire du prédateur dont le niveau trophique est le plus élevé dans le réseau

Diversité trophique : relative à un organisme, une population ou une communauté. ensemble des comportements alimentaires existant dans la communauté. regroupe à la fois les modes d'alimentation (brouleur, raclleur, déchiqueteur, filtreur, perceur, prédateur) et les aliments consommés (végétaux, animaux de différentes tailles...). Il est couramment admis que la diversité trophique est assez bien appréhendée grâce aux deux isotopes stables du carbone et de l'azote.

État écologique : expression de la qualité de la structure et du fonctionnement d'un écosystème

Facteurs environnementaux : tout élément « naturel » (climat, géologie, ...) susceptible d'agir sur les êtres vivants d'un écosystème

Gradient amont-aval : variation des contraintes physiques (volume d'eau, vitesse de courant, taille des sédiments, largeur du chenal) de l'amont à l'aval d'un cours d'eau, entraînant des modifications de la structure et vraisemblablement du fonctionnement des communautés biologiques

Isotopes : les isotopes désignent les différentes formes d'un élément de la classification périodique qui possèdent le même nombre de protons mais un nombre de neutrons différents. Ils ont donc la même structure électronique mais une masse différente. Ils peuvent être stables ou se désintégrer au cours du temps.

Matière organique : ensemble des matières issues des êtres vivants et de leur décomposition

Position trophique : nombre d'intermédiaires entre un organisme et les ressources exploitées par l'écosystème

Pressions anthropiques : généralement toutes actions d'origine humaine qui entraînent des modifications de l'état écologique d'un écosystème par rapport à son état de référence

Ratio isotopique : rapport entre les abondances d'un isotope lourd et léger d'un élément chimique

Réseau trophique : ensemble des relations alimentaires entre les êtres vivants ou en décomposition d'un écosystème.

Signal isotopique : écart relatif entre les ratios isotopiques de l'échantillon et d'un standard international

8. Sigles & Abréviations

DCE : Directive Cadre sur l'Eau

HÉF : équipe de recherche HydroÉcologie Fluviale d'Irstea

IPR : Indice Poissons Rivière

I2M2 : Indice Invertébrés Multi-Métriques

IBMR : Indice Biologique Macrophytique en Rivière

IBD : Indice Biologique Diatomées

Irstea : Institut national de recherche en sciences et technologies pour l'environnement et l'agriculture

AFB : Agence Française pour la Biodiversité

9. Bibliographie

- Allan, J. (2004). Landscapes and riverscapes : The influence of land use on stream ecosystems. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 35, 257–284.
- Anderson, C. & Cabana, G. (2007). Estimating the trophic position of aquatic consumers in river food webs using stable nitrogen isotopes. *J. N. Am. Benthol. Soc.* 26, 273–285.
- Belliard, J., Boët, P. & Tales, E. (1997). Regional and longitudinal patterns of fish community structure in the Seine river basin, France. *Environmental Biology of Fishes* 50, 133–147.
- Bolnick, D., Svanbäck, R., Fordyce, J., Yang, L., Davis, J., Hulseley, C. & Forister, M. (2003). The ecology of individuals: Incidence and implications of individual specialization. *American Naturalist* 161, 1–28.
- Cabana, G. & Rasmussen, J. (1996). Comparison of aquatic food chains using nitrogen isotopes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93, 10844–10847.
- Chang, H.Y., Wu, S.H., Shao, K.T., Kao, W.Y., Maa, C.J., Jan, R.Q., Liu, L.L., Tzeng, C.S., Hwang, J.S., Hsieh, H.L., Kao, S.J., Chen, Y.K. & Lin, H.J. (2012). Longitudinal variation in food sources and their use by aquatic fauna along a subtropical river in Taiwan. *Freshwater Biology* 57, 1839–1853.
- Cucherousset, J. & Villéger, S. (2015). Quantifying the multiple facets of isotopic diversity : New metrics for stable isotope ecology. *Ecological Indicators* 56, 152–160.
- DeNiro, M. & Epstein, S. (1978). Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 42, 495–506.
- DeNiro, M. & Epstein, S. (1981). Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 45, 341–351.
- Elton, C. (1927). *Animal ecology*. Macmillan Co, New York.
- Fry, B., Joern, A. & Parker, P.L. (1978). Grasshopper food web analysis : Use of carbon isotope ratios to examine feeding relationships among terrestrial herbivores. *Ecology* 59, pp. 498–506.
- Hette-Tronquart, N., Mazeas, L., Reuilly-Manenti, L., Zahm, A. & Belliard, J. (2012). Fish fins as non-lethal surrogates for muscle tissues in freshwater food web studies using stable isotopes. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 26, 1603–1608.
- Hette-Tronquart, N., Roussel, J.M., Dumont, B., Archaimbault, V., Pont, D., Oberdorff, T. & Belliard, J. (2013). Variability of water temperature may influence food-chain length in temperate streams. *Hydrobiologia* 718, 159–172.
- Hette-Tronquart, N., Belliard, J., Tales, E. & Oberdorff, T. (2016). Stable isotopes reveal food web modifications along the upstream–downstream gradient of a temperate stream. *Aquatic Sciences* 78, 255–265.
- Hette-Tronquart, N., Oberdorff, T., Tales, E., Zahm, A. & Belliard, J. (2017). Biological impacts of local vs. regional land use on a small tributary of the Seine river (France): insights from a food-web approach based on stable isotopes. *Environmental Science and Pollution Research*, published online in March 2017.
- Jardine, T. (2014). Organic matter sources and size structuring in stream invertebrate food webs across a tropical to temperate gradient. *Freshwater Biology*.
- Layman, C., Arrington, D., Montaña, C. & Post, D. (2007). Can stable isotope ratios provide for community-wide measures of trophic structure ? *Ecology* 88, 42–48.
- MacHugh, P., MacIntosh, A. & Jellyman, P. (2010). Dual influences of ecosystem size and disturbance on food chain length in streams. *Ecology Letters* 13, 881–890.
- Petts, G. & Calow, P. (eds.) (1996). *River Biota : Diversity and Dynamics*. Blackwell Science, Oxford.
- Phillips, D. (2012). Converting isotope values to diet composition : The use of mixing models. *Journal of Mammalogy* 93, 342–352.
- Phillips, D. & Gregg, J. (2003). Source partitioning using stable isotopes : Coping with too many sources. *Oecologia* 136, 261–269.
- Post, D. (2002a). The long and short of food-chain length. *Trends in Ecology and Evolution* 17, 269–277.
- Post, D. (2002b). Using stable isotopes to estimate trophic position : Models, methods, and assumptions. *Ecology* 83, 703–718.
- Rigolet, C., Thiébaud, E., Brind'Amour, A. & Dubois, S. (2015). Investigating isotopic functional indices to

reveal changes in the structure and functioning of benthic communities. *Functional Ecology* 29, 1350–1360.

Sabo, J., Finlay, J. & Post, D. (2009). Food chains in freshwaters. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1162, 187–220.

Sweeney, B. (1992). Streamside forests and the physical, chemical, and trophic characteristics of Piedmont streams in eastern north america. *Water Science and Technology* 25, 2653–2673.

Thompson, R. & Townsend, C. (2005). Energy availability, spatial heterogeneity and ecosystem size predict food-web structure in streams. *Oikos* 108, 137–148.

Vander Zanden, M. & Rasmussen, J. (1999). Primary consumer $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ and the trophic position of aquatic consumers. *Ecology* 80, 1395–1404.

Vannote, R., Minshall, G., Cummins, K., Sedell, J. & Cushing, C. (1980). The river continuum concept. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 37, 130–137.

Verneaux, J., Schmitt, A., Verneaux, V. & Prouteau, C. (2003). Benthic insects and fish of the Doubs river system : Typological traits and the development of a species continuum in a theoretically extrapolated watercourse. *Hydrobiologia* 490, 63–74.

10. Table des illustrations

Figure 1 : Représentation théorique de la diversité trophique d'un écosystème aquatique. Par définition la diversité trophique correspond à la diversité des interactions d'ordre alimentaire existant au sein d'un écosystème. Comme le montre la figure, la diversité trophique possède deux dimensions. La dimension verticale représente la diversité des positions trophiques exprimées dans l'écosystème : des sources de matière organique (algues, macrophytes, litière), à la base, jusqu'au super-prédateur, en haut (le brochet dans l'exemple). La dimension horizontale correspond à la diversité des ressources exploitées par l'écosystème : des sources de matières organiques d'origine aquatique (algues/macrophytes), aux matières organiques d'origine terrestre (essentiellement des litières).	11
Figure 2 : Principe de l'utilisation des isotopes stables pour les études de diversité trophique. Les principaux transferts d'énergie s'effectuent suivant le sens des flèches. ΔC et ΔN représentent le fractionnement isotopique existant entre un consommateur et sa nourriture.	16
Figure 3 : 2 exemples de métriques isotopiques. Les différents symboles représentent des taxons différents membres d'une même communauté. Ils sont placés en fonction des signaux isotopiques en carbone ($\delta^{13}C$) et azote ($\delta^{15}N$). L'aire du polygone convexe en traits pleins englobant tous les symboles est une métrique, mesurant la diversité trophique de la communauté de taxon. Elle intègre à la fois la dimension verticale (diversité des positions trophiques) et la dimension horizontale (diversité des ressources exploitées). L'aire de l'ellipse standard en pointillé fournit une autre métrique, quantifiant le cœur de l'espace trophique occupé par la communauté.	16
Figure 4 : Distribution géographique des 57 sites retenus dans le plan d'expérience des actions 33 et 20.	18
Figure 5 : Calcul de la nouvelle métrique à partir de l'aire du polygone convexe adapté (cf. annexe 1) en gris sur le graphique. La nouvelle métrique est égale au rapport entre l'aire de l'union des ellipses standard de chaque espèce (en couleur rouge, vert et orange) et l'aire du polygone (gris).	24
Figure 6 : Principe de calcul de la ligne de base isotopique. Ajustement des signaux isotopiques des autres taxons filtreurs au niveau des bivalves.	25
Figure 7 : Évolution de l'aire de l'espace isotopique occupé par la communauté de poissons de l'amont (valeur négative) à l'aval (valeur positive). Les courbes représentent le modèle linéaire (p -value = 0.014, R^2 = 0.47) et son intervalle de confiance que nous avons établis entre les deux variables.	26
Figure 8 : Évolution de l'aire de l'espace isotopique (TA) en fonction du nombre d'espèces présentes dans la communauté de poisson. Le modèle est significatif et explique 66% de la variation observée.	27
Figure 9 : Distribution de la diversité trophique selon le degré d'altération anthropique.	28
Figure 10 : Évolution de la diversité trophique mesurée par l'aire de l'espace isotopique en fonction du gradient amont aval (UDG) et de l'occupation des sols à l'échelle locale (LUL).	29
Figure 11 : Évolution de la diversité trophique mesurée par la longueur de chaîne trophique en fonction de la note de l'IPR sur 65 sites de notre base de données. Plus les notes de l'IPR sont élevées, plus l'état écologique du cours d'eau est dégradé.	30
Figure 12 : Distribution des notes de l'IPR selon le degré d'altération anthropique (46 sites).	31

11. Annexes

Annexe 1 : : Chapitre consacré aux isotopes stables de l'ouvrage « Comprendre pour agir »

Contributeurs (par ordre alphabétique) : J. Belliard, J. Cucherousset, N. Hette-Tronquart, C. Rigolet, F. Santoul

d. Réseaux trophiques et analyses des isotopes stables

1) Principes généraux (3 pages Texte)

La biodiversité est un concept relativement complexe, aux multiples facettes et assez difficile à appréhender dans sa globalité. D'ailleurs, les opinions divergent sur la manière de mesurer la biodiversité et il n'existe aucune mesure universelle pour l'estimer. Au-delà de la question des échelles spatiales et biologiques auxquelles la biodiversité peut être appréhendée, sa qualification peut s'envisager selon deux dimensions principales : une dimension structurelle qui fait référence à la façon dont les populations et les communautés sont composées et une dimension fonctionnelle relative aux flux de matière, d'organismes et d'énergie dans les systèmes écologiques. Cette dimension fonctionnelle se réfère aux propriétés et/ou processus biologiques et physiques au sein des écosystèmes, comme par exemple le recyclage de la matière organique ou la production de biomasse. Bien que souvent opposés, les dimensions structurelle et fonctionnelle de la biodiversité sont pourtant étroitement liées. En effet, l'étude des relations entre biodiversité et fonctionnement des écosystèmes a permis de démontrer de manière générale un effet positif de la biodiversité (dimension structurelle avec la diversité des espèces) sur le fonctionnement des écosystèmes (Hector et al., 1999 ; Tilman et al., 2006). Il reste néanmoins difficile de mettre en place des approches intégrant de manière explicite ces deux facettes de la biodiversité.

L'écologie des réseaux trophiques est une approche qui intègre pourtant ces deux dimensions de la biodiversité (structure et fonctionnement). En effet, l'architecture d'un réseau trophique passe par la représentation d'espèces ou groupes d'espèces interconnectées par des liens trophiques. Chaque espèce est un point (un nœud) du réseau trophique et représente la facette structurelle de la biodiversité. Les liens entre les espèces correspondent quant à eux à des flux de matière et d'énergie et représentent donc la facette fonctionnelle de la biodiversité (Thompson et al., 2012). De part leur capacité à intégrer non seulement la structure mais également certains aspects du fonctionnement des écosystèmes, les réseaux trophiques fournissent donc une image intégrée et complète de la biodiversité dans les écosystèmes.

En 2000, la Directive Cadre sur l'Eau (DCE, directive 2000/60/CE du 23 octobre 2000) a fixé des objectifs de qualité des masses d'eau : un « bon état » à atteindre en 2015, 2021 ou 2027. Elle définit « l'état écologique » comme « l'expression de la qualité de la structure et du fonctionnement des écosystèmes aquatiques ». Par cette définition, la DCE reconnaît implicitement que l'évaluation de l'état écologique des systèmes aquatiques devrait reposer à la fois sur une dimension structurelle et une dimension fonctionnelle. Pourtant, les bioindicateurs actuellement disponibles (par exemple IPR+ et I2M2 pour les cours d'eau) reposent essentiellement sur une description de la structure des communautés en tenant compte principalement de la présence et de l'abondance des espèces, n'abordant les aspects fonctionnels que de manière très indirecte et imparfaite. Ainsi, en complément des indicateurs de structure préalablement mis au point (basés sur la composition des communautés biologiques), des indicateurs fonctionnels (portant sur la mesure de stocks ou de taux de transformation des biomasses) sont actuellement en développement. Néanmoins, ces deux types d'indicateurs restent relativement déconnectés les uns des autres et renseignent peu sur l'état global des systèmes

écologiques. Dans ce contexte, les réseaux trophiques, grâce à leur capacité à intégrer à la fois la notion de structure des communautés (par les espèces présentes) et de fonctionnement de l'écosystème (par les flux d'énergie), pourraient constituer une nouvelle approche « structuro-fonctionnelle » (outil multi-facettes) pour quantifier l'état écologique des écosystèmes. Historiquement, en écologie des réseaux trophiques, les liens trophiques entre espèces ont dans un premier temps été étudiés à l'aide de méthodes directes telles que l'analyse des contenus stomacaux. Cependant, cette technique présente certaines difficultés méthodologiques (e.g., identification difficile des proies, image ponctuelle du régime alimentaire, mesure des ressources ingérées et non celles réellement assimilées par les consommateurs) et présente l'inconvénient principal d'avoir un coût humain important pour l'identification des ressources alimentaires utilisées. Face à ces inconvénients, de nouvelles méthodes comme l'analyse des isotopes stables (voir détails dans **Encadré 1**) ont récemment émergé. Cette méthode, qui se base sur la quantification indirecte des interactions trophiques entre les différents compartiments (Peterson et Fry, 1987; Layman et al., 2012), a connu un développement sans précédent au cours des deux dernières décennies notamment car elle présente plusieurs avantages. D'abord, les valeurs isotopiques des consommateurs représentent celles des ressources trophiques réellement assimilées par l'organisme et contribuant directement à son métabolisme, et non pas celles des ressources ingérées. Ensuite, les isotopes stables ont l'avantage de fournir une vision temporellement plus intégrative des interactions biologiques et des réseaux trophiques (de plusieurs jours à plusieurs mois en fonction des tissus analysés). L'analyse des isotopes stables en écologie trophique présente néanmoins certains désavantages. Par exemple, elle ne permet pas une résolution fine (au niveau taxonomique) du régime alimentaire.

Le traçage isotopique en écologie trophique est un outil en constante évolution. En effet, par l'émergence de nouveaux concepts et de nouvelles méthodes analytiques et par le développement de mesures capables de synthétiser l'information contenue dans les valeurs isotopiques, ce domaine a connu ces dernières décennies une évolution importante.. Dans un premier temps, pour appréhender les différents aspects des réseaux trophiques, les isotopes stables du carbone et de l'azote ont été utilisés de manière indépendante. Dans ce contexte, la longueur de chaîne trophique (i.e. nombre de niveaux trophiques composant un réseau trophique), considérée comme un paramètre important des communautés écologiques (Post et al., 2000), a été l'une des premières métriques quantitatives développée pour l'analyse des isotopes stables (en utilisant les valeurs en $\delta^{15}\text{N}$ des consommateurs primaires et des top-prédateurs). En parallèle, en utilisant les valeurs en $\delta^{13}\text{C}$ des organismes, les chercheurs ont également développé des méthodes permettant de quantifier l'origine de l'énergie qui rentre dans les réseaux trophiques. Ensuite, et afin de constituer une image plus intégrative du réseau trophique, les études ont représenté la moyenne des signatures isotopiques des organismes dans un espace à deux dimensions constitué par le biplot $\delta^{13}\text{C} - \delta^{15}\text{N}$ (i.e., valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ en abscisses, valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ en ordonnées, **Figure 1**). La position relative des espèces dans cet espace isotopique a alors été utilisée pour quantifier la structure du réseau trophique. Cette utilisation couplée du carbone et de l'azote a notamment permis le développement de modèles d'équations de mélange (Phillips et Gregg, 2003). Cette méthode permet ainsi de quantifier les contributions relatives de différentes sources de nourriture dans le régime alimentaire d'un organisme et elle s'est avérée utile pour comprendre le comportement alimentaire de certaines espèces.

Bien que la représentation dans le biplot $\delta^{13}\text{C} - \delta^{15}\text{N}$ aide à visualiser indirectement les interactions trophiques et à estimer qualitativement les réseaux trophiques, les besoins en interprétation des données isotopiques ont donné lieu à l'émergence de nouveaux concepts et au développement de nouvelles métriques quantitatives, permettant une quantification rigoureuse et fine des réseaux trophiques. Ces nouveaux concepts ont émergés sur la base du concept de niche écologique développé par Hutchinson et notamment sur l'idée que la niche isotopique peut être utilisée comme un moyen d'appréhender la niche trophique d'une espèce (Bearhop et al., 2004; Newsome et al., 2007). En effet, la valeur isotopique d'un organisme fournit des renseignements quantitatifs à la fois sur l'utilisation des ressources (bionomie) mais également sur l'utilisation de

l'habitat (scenopoétique), deux facteurs déterminants pour appréhender la niche écologique des organismes dans les milieux naturels. Dans ce contexte, la niche isotopique d'un organisme peut alors être représentée par l'aire (l'enveloppe convexe ou hypervolume) occupée par cette espèce dans l'espace à deux dimensions constitué par le biplot $\delta^{13}\text{C}$ - $\delta^{15}\text{N}$.

Sur la base de ce concept de niche isotopique, Layman et al. (2007) ont ensuite proposé l'utilisation d'un ensemble de nouvelles métriques pour caractériser les réseaux trophiques de manière quantitative (**Figure 2**). Ces métriques se basent sur la distribution des espèces dans l'espace isotopique. Elles synthétisent la complexité de l'information d'un réseau trophique en intégrant différents aspects de la structure et du fonctionnement trophique des communautés. Bien que ces métriques fournissent des informations complémentaires, elles présentent néanmoins plusieurs inconvénients, notamment celui d'être sensibles à l'effort d'échantillonnage et à la présence de points extrêmes. Dans ce contexte, Jackson et al. (2011) ont proposé une nouvelle métrique : la « standard ellipse area » (SEA) comme une mesure du cœur de la niche isotopique d'une population, présentant ainsi l'avantage d'être plus robuste et moins sensible à la présence de valeurs extrêmes et au nombre d'individus échantillonnés pour mesurer la taille de la niche trophique à l'aide des isotopes stables.

La pertinence des outils isotopiques en écologie trophique a été évaluée notamment en testant leur capacité à répondre à des perturbations de natures diverses. Dans ce contexte, le traçage isotopique s'est avéré être pertinent et efficace pour comprendre comment des perturbations telles que l'eutrophisation, les invasions biologiques ou encore la fragmentation des habitats affectent les flux de matière et d'énergie au sein et entre les écosystèmes (**Tableau 1**). Ainsi, les études menées jusqu'à présent suggèrent l'existence d'un potentiel important de l'analyse des isotopes stables, non seulement pour quantifier la réponse des écosystèmes aux perturbations, mais également pour la construction d'outils de gestion fiables. Utilisée de manière appropriée, elle peut donc constituer une méthode robuste capable de caractériser les changements observés dans les écosystèmes en prenant en compte à la fois les aspects structurels mais également fonctionnels. L'émergence de nouveaux concepts ont fortement contribué à une approche plus quantitative dans la façon de traiter les données isotopiques, permettant ainsi de mieux cerner le fonctionnement des réseaux trophiques. Ainsi, il apparaît que cette discipline a acquis une maturité théorique, méthodologique et analytique suffisante pour envisager son utilisation dans le contexte de la bioindication intégrative.

C'est dans ce contexte général d'utilisation des isotopes stables pour le développement d'approches de bioindication qui intègrent explicitement la structure des communautés et le fonctionnement des écosystèmes que les projets de recherches suivants ont été mis en place afin de mieux quantifier la réponse des écosystèmes aquatiques aux perturbations multiples d'origine anthropique.

2) Exemples issues des résultats des conventions (7 pages Texte)

2a) Métriques isotopiques fonctionnelles (1 page)

Au cours de la dernière décennie, de nombreuses approches quantitatives (ou métriques) ont été proposées afin de mesurer la '*diversité isotopique*' (i.e. distribution de points représentant des organismes dans un espace isotopique bidimensionnel) à différents niveaux d'organisation biologique (e.g. individus au sein de populations ou populations au sein de communautés). Ces métriques ont largement démontré leur intérêt et leur utilité dans de nombreux cas d'études visant à quantifier les impacts écologiques des activités anthropiques (Layman et al., 2007 ; Rawcliffe et al., 2010 ; Hogsden and Harding, 2014, **Tableau 1**). Néanmoins, elles ne permettent pas de prendre en compte l'abondance ou la biomasse des différents organismes dans les réseaux trophiques alors même que les perturbations anthropiques peuvent directement affecter la structure des communautés et donc l'abondance des différentes espèces au sein de ces

communautés. Aussi, en se basant uniquement sur les valeurs isotopiques des organismes pour leur calcul, ces métriques font donc la supposition que tous les organismes ont une contribution semblable à la diversité isotopique et donc au fonctionnement du réseau trophique. Cela ne semble pas être réaliste dans les systèmes écologiques et ne permet donc pas de fournir une vision exhaustive de la diversité isotopique, notamment dans un contexte de perturbations anthropiques.

En parallèle, des méthodes basées sur l'utilisation des traits des espèces ont été développées par les écologues pour quantifier les multiples facettes de la diversité fonctionnelle des communautés. Ces métriques permettent de quantifier, en plusieurs dimensions, les caractéristiques fonctionnelles des communautés en prenant en compte les abondances relatives des espèces au sein des communautés. Ainsi, le calcul de chaque métrique de diversité fonctionnelle est dépendant de l'importance de chaque espèce dans la communauté que l'on peut exprimer soit en abondance relative soit en biomasse relative. Ici, nous avons donc transposé ces métriques fonctionnelles pour une utilisation avec des données isotopiques (Cucherousset & Villeger 2015) pour créer plusieurs nouvelles métriques isotopiques. Il s'agit plus particulièrement de la divergence isotopique (*IDiv*), de la dispersion isotopique (*IDis*), de la régularité isotopique (*IEve*) et de l'unicité isotopique (*IUni*) (**Tableau 2 et Figure 3**). Nous avons également mis en place deux indices (la similarité isotopique *ISim* et la nestedness isotopique *ITurn*) permettant de calculer des niveaux de chevauchement de niches isotopiques entre espèces au sein des communautés. Ainsi, deux fonctions (*IDiversity* et *IOverlap*, **Tableau 2**) ont été développées sur la plateforme R pour calculer ces nouvelles métriques isotopiques et sont en accès libre.

En plus d'offrir la possibilité de prendre en compte de manière explicite l'abondance (ou la biomasse) des organismes dans les réseaux trophiques pour le calcul des métriques, cette étude a permis de proposer d'autres points de nouveautés pour le traitement et l'analyse des données isotopiques. Il s'agit d'abord de la possibilité de calculer ces métriques dans n dimensions, permettant ainsi d'utiliser plus que deux isotopes. Il s'agit ensuite de la possibilité de normaliser les différents axes afin de donner la même importance mathématique à chaque isotope dans le calcul des métriques. L'objectif de ce travail était de fournir des métriques les plus intégratives possibles et pouvant s'adapter à chaque situation, avec ensuite une phase de tests nécessaires.

2b) Fiche IRSTEA (2 pages)

Objectifs :

Le projet mené par Irstea (UR HBAN) a cherché à intégrer une dimension fonctionnelle et trophique dans la bioindication en évaluant la possibilité d'utiliser des indicateurs basés sur l'analyse des isotopes stables de l'azote et du carbone pour apprécier l'impact des pressions humaines sur les cours d'eau. Dans un premier temps le projet a étudié comment les facteurs environnementaux naturels (gradient amont-aval, géologie, climat/altitude) contrôlent les caractéristiques des réseaux trophiques (vus par le biais des métriques isotopiques). Dans un second temps, compte tenu du contexte naturel, il s'agit d'évaluer comment certaines pressions anthropiques sont susceptibles d'induire des modifications du fonctionnement trophique, mesurables au niveau des métriques isotopiques. Enfin, la dernière étape consiste à préciser comment les métriques isotopiques sont en mesure de fournir des éléments diagnostics complémentaires aux bioindicateurs déjà existants.

Méthode :

Un total de 54 sites répartis sur l'ensemble du territoire a été étudié dans le cadre de ce projet (**Figure 4**). Parmi eux, 38 sites sont situés sur des cours d'eau peu affectés par les activités humaines. Ils couvrent une large gamme de conditions environnementales notamment du point de vue de la taille du cours d'eau, de la géologie et des conditions hydroclimatiques, et sont utilisés pour identifier les facteurs environnementaux naturels qui contrôlent les réseaux trophiques. Les 16 sites restant couvrent une gamme de conditions naturelles plus restreintes mais subissent des

perturbations anthropiques significatives : altérations morphologiques (rectification, recalibrage...), pollutions (organique et par les nutriments), ou cumul des deux types de pressions. Ils sont utilisés avec les 38 sites précédents pour tester l'existence d'une réponse des réseaux trophiques à l'altération des cours d'eau.

Sur chaque site, différentes sources de matière organique (MES, biofilm, macrophytes, litière) ainsi que différents taxons d'invertébrés (taxons cibles définis en fonctions de leur régime alimentaire) ont été prélevés. L'assemblage piscicole a fait l'objet d'un échantillonnage plus exhaustif (prélèvements de nageoires) : pour les espèces communes, 5 individus par espèce ont été prélevés ; pour les espèces plus rares, en particulier pour les top-prédateurs, un nombre d'individus plus restreint a été échantillonnés (fonction des disponibilités). Ces échantillons biologiques ont fait l'objet d'analyses isotopiques du C et du N à partir desquelles différentes métriques isotopiques ont été calculées.

Résultats :

Les résultats présentés ici concernent uniquement la diversité trophique des communautés piscicoles appréhendée par les métriques CR (reflétant la diversité des sources de matière organique exploitées par le réseau trophique), NR (mesurant le nombre de niveaux trophiques occupés par la communauté) et TA (correspondant à une mesure synthétique de la diversité trophique qui intègre les deux dimensions estimées par CR et NR, cf. **Figure 2**). Ces résultats sont emblématiques des résultats obtenus au cours du projet et permettent de saisir l'état actuel des recherches, le potentiel des métriques isotopiques et les enjeux pour le futur.

Concernant l'effet des contraintes environnementales naturelles, une première analyse montre que la diversité trophique augmente significativement de l'amont à l'aval des cours d'eau quelle que soit la métrique considérée. En revanche, les autres contraintes considérées (géologie, climat) ne semblent pas influencer notablement la diversité trophique de la communauté piscicole, comme le suggère l'absence de réponse des métriques. Dans un second temps, une analyse plus détaillée montre que l'augmentation de la diversité trophique de l'amont à l'aval s'explique essentiellement par une augmentation du nombre d'espèces de la communauté de poissons. En fait, les résultats montrent que le nombre d'espèces est un paramètre déterminant pour les métriques isotopiques CR, NR et TA (par exemple, il peut expliquer jusqu'à 66% de la variabilité observée, **Figure 5**). Ainsi, si les contraintes environnementales naturelles modifient les métriques CR, NR et TA, elles le font principalement de manière indirecte, en jouant sur le nombre d'espèces présentes dans la communauté de poissons. Ces résultats restent malgré tout à préciser, notamment en affinant la description de certains facteurs environnementaux naturels comme la géologie.

Concernant l'évaluation des contraintes anthropiques, une analyse simple des métriques isotopiques indique que la diversité trophique semble légèrement plus grande pour les sites soumis à des pollutions organiques que pour les sites peu altérés. À l'inverse, les sites soumis à une altération morphologique, ou aux deux types de pression, semblent subir une perte de diversité trophique (cf. **Figure 6**). De façon surprenante, ces tendances ne se retrouvent pas au niveau du nombre d'espèces dans la communauté de poissons (la richesse en espèces est comparable entre les sites peu altérés et les sites influencés par les différents types de pression anthropique). En revanche, il apparaît que l'effet du nombre d'espèces sur les métriques CR, NR et TA est modifié par les pressions anthropiques. Ainsi, l'augmentation des métriques avec le nombre d'espèces est plus forte sur les sites soumis à des pollutions organiques par rapport aux sites peu impactés. Inversement, les sites soumis aux altérations morphologiques possèdent une diversité trophique qui augmente moins rapidement que celle des sites peu altérés. Enfin, les sites soumis aux deux types de pression (pollution organique et altération morphologique) voient leur diversité trophique augmenter avec un taux intermédiaire (cf. **Figure 7**). Ces résultats suggèrent que les métriques isotopiques CR, NR et TA répondent différemment selon le type de pression

anthropique. Il faut maintenant confirmer ces résultats en quantifiant le niveau des pressions anthropiques, plutôt qu'en indiquant seulement le type de pression prédominant. Cela permettra d'avoir une évaluation plus nuancée de l'effet des contraintes anthropiques, qui pourra inclure tous les sites étudiés dans un gradient global (des sites peu altérés aux sites fortement impactés).

Il restera alors à confronter les réponses des métriques isotopiques caractérisant la diversité trophique aux réponses des bioindicateurs traditionnels pour évaluer dans quelle mesure les métriques isotopiques apportent un diagnostic complémentaire sur l'état écologique des cours d'eau.

2c) Fiche ECOLAB (2 pages)

L'objectif du projet mené par Ecolab (UMR 5245) était de tester un indicateur fonctionnel précoce du succès des opérations de restauration écologique des cours d'eau. Plus précisément ce projet était axé sur la mise en place d'un indicateur fonctionnel basé sur des métriques issues de l'analyse isotopique des communautés de poissons. Nous avons essayé ici d'analyser/comparer des « images trophiques » de communautés. Ce volet fonctionnel visait donc à tester l'efficacité des actions menées sur le rétablissement des services écosystémiques et correspond davantage à la notion de réhabilitation *sensus stricto* (qui vise à rétablir des processus écologiques) qu'à la notion de restauration (qui vise à rétablir également la diversité et la structure de référence). Nous nous sommes intéressés aux interventions en lit mineur : pose de déflecteurs, pose de blocs et recharge en granulats (**Figure 8**). Ces interventions, sont les plus pratiquées dans le bassin Adour-Garonne qui constitue la zone d'étude de ce projet. Nous nous sommes également intéressés à l'effet de la ripisylve, puisque les boisements rivulaires sont bien souvent soumis à une gestion chaotique (coupe à blanc puis absence d'intervention), créant une succession temporelle et/ou spatiale de couvertures dense ou quasi absente.

L'efficacité de la réhabilitation des cours d'eau sur les communautés piscicoles est estimée en comparant les patrons de diversité fonctionnelle de situations récemment restaurées (2012) avec ceux de situations non altérées et altérées. Nous avons constitué un ensemble de 12 stations (4 triplets) situées dans un quart sud-ouest de la France (**Figure 9**).

Les pêches et les prélèvements sur ces stations ont été réalisés par le laboratoire EcoLab soutenu au cas par cas par des fédérations de pêche (Charente, Tarn et Garonne, Haute-Garonne et Gers) et des syndicats de rivière. Chaque rivière a été échantillonnée par pêche électrique. Les poissons capturés ont été dénombrés et mesurés, avant d'être relâchés. Les prélèvements d'un fragment de nageoire ont été effectués sur 5 individus de chaque espèce. Les espèces peu abondantes ($n < 5$) ont également subi un prélèvement de nageoire.

Les calculs des six métriques de Layman (voir ci-dessus) sur les cours d'eau pêchés en 2013 mettent en évidence une réponse marquée de trois métriques : NR (range d'azote), CR (range de carbone) et TA (aire totale). Ces métriques semblent pertinentes pour suivre l'évolution des différents types de station (restaurée, altérée, non altérée) au cours du temps. Il n'existe cependant pas de différence significative pour les trois métriques (TA, CR et NR) sur les trois types de station en 2013 et en 2014. Nos résultats laissent penser que les variables susceptibles d'influencer le fonctionnement des cours d'eau restaurés ne sont pas détectables à ce stade-là de la restauration/aménagement (**Figure 10**).

Dans un second temps, afin de mieux comprendre l'effet de l'environnement sur les structures fonctionnelles des communautés de poissons, nous nous sommes intéressées à trois grandes catégories de variables : hydrographie, occupation des sols, pressions humaines. Ces variables ont été analysées à différentes échelles.

A l'échelle du bassin versant, les variables explicatives retenues dans la construction du modèle sont liées à la pression démographique (nombre de stations d'épuration, densité

humaine), le pourcentage de surface urbanisée, de forêts et enfin de cultures agricoles. A l'échelle du corridor fluvial (bande de 2000 km x 200 m), c'est le recouvrement végétal et la surface occupée par une végétation forestière qui sont sélectionnées. Enfin, les micro-habitats retenus dans le modèle sont les blocs, les hydrophytes, les racines, les débris végétaux et la litière.

L'analyse des résultats met en évidence une influence négative de l'anthropisation des bassins versants sur l'occupation forestière et le recouvrement végétal à l'échelle du corridor (**Figure 11**). Hors, la ripisylve est un promoteur d'habitat en milieu aquatique et favorise également les flux allochtones vers les cours d'eau, augmentant ainsi la TA (aire totale) et le CR (range de carbone) mesurés au niveau des communautés de poissons. De plus, les habitats provenant des ligneux en berges ont aussi un effet positif très marqué sur NR (range d'azote), c'est-à-dire sur la longueur de la chaîne trophique. En effet, ces habitats présentent des refuges pour les petits individus et des lieux de chasse intéressants pour les prédateurs. En affectant la ripisylve, l'anthropisation des bassins versants tend à diminuer la diversité fonctionnelle des communautés piscicoles.

L'approche multi-échelles développée dans cette étude permet de distinguer les effets des variables environnementales agissant à différentes échelles sur les cours d'eau considérés. La pression démographique dans le bassin versant tend à diminuer la diversité fonctionnelle des communautés piscicoles. Cette anthropisation des bassins versants a pour effet une diminution du cordon rivulaire et donc des apports allochtones dans les cours d'eau réduisant ainsi la diversité des ressources disponibles pour les communautés et donc la richesse trophique. Nos résultats mettent en avant le rôle primordial de la ripisylve dans le fonctionnement trophique des communautés de poissons. Ces résultats démontrent l'importance dans des projets de restauration/aménagement de mettre en place des actions en faveur de la ripisylve, ceci dans l'objectif à moyen terme d'un meilleur fonctionnement des communautés de poissons.

2d) Fiche EDB (2 pages)

Le projet « *ISOLAC - Bioévaluation du bon potentiel et de la restauration des plans d'eau : apport des méthodes isotopiques* » mené au sein du laboratoire EDB (UMR 5174) avait pour but général de déterminer si l'analyse des isotopes stables peut être utilisée pour évaluer l'intégrité écologique des écosystèmes aquatiques soumis à différents niveaux de pressions environnementales naturelles et anthropiques. L'objectif principal était donc de déterminer la sensibilité des indicateurs isotopiques à différentes contraintes environnementales. Ce projet s'est déroulé dans des gravières de la région toulousaine. De part leur taille relativement réduite (2 à 20 ha), leur origine artificielle (exploitation de granulats) et les différents usages associés (pêche, promenade), ces écosystèmes constituaient une opportunité unique pour évaluer rigoureusement l'impact des contraintes environnementales naturelles et anthropiques sur les milieux aquatiques. L'intérêt d'étudier les gravières résidait également dans leur statut de masse d'eau fortement modifiée (MEA/MEFM) dont le bon potentiel écologique doit être préservé. Pour réaliser ce projet, un ensemble de 18 plans d'eau a donc été sélectionné afin de constituer un panel de sites affectés par différents gradients d'intensité de contraintes environnementales.

Les sites d'étude ont été étudiés pendant deux années consécutives qui étaient caractérisées par des conditions environnementales contrastées. Plus précisément, la première année étudiée était marquée par une eutrophisation plus importante des plans d'eau liée à une sécheresse importante, modifiant fortement les caractéristiques physico-chimiques de l'eau. L'ensemble des caractéristiques environnementales biotiques et abiotiques (hydro-morphologie, bathymétrie, recouvrement par la ripisylve, concentration en chlorophylle *a*, teneurs en nutriments dissous, ...) des sites d'études a été quantifié. D'autre part, la structure des communautés biologiques telles que le zooplancton, les macroinvertébrés et les poissons a été quantifiée. Enfin, dans chaque site, la structure de l'ensemble du réseau trophique a également été

mesurée à l'automne à l'aide de l'analyse des isotopes stables du carbone et de l'azote. En plus des communautés animales mentionnées précédemment, ces analyses isotopiques incluaient les différentes sources de matière organique aquatique (périphyton, macrophytes) et terrestre (litières d'arbre) qui soutiennent les réseaux trophiques aquatiques. La structure trophique de la communauté piscicole a notamment fait l'objet d'une description particulièrement précise. Ainsi, chaque espèce de poisson a été séparée en trois stades de vie (juvéniles de l'année, juvéniles et adultes) et 5 individus ont été échantillonnés (morceau de nageoire) pour chaque stade, chaque espèce et dans chaque site. Les valeurs isotopiques des macroinvertébrés et des producteurs primaires ont notamment permis de corriger les valeurs isotopiques des poissons, afin de pouvoir comparer les différents réseaux trophiques (comparaisons inter-sites et inter-années). Un large panel de métriques isotopiques mesurant la complexité de la structure trophique de chaque communauté piscicole a été calculé. Ce panel incluait des métriques communément employées dans l'étude des réseaux trophiques (i.e. longueur de chaîne trophique FCL, SEAc, la contribution des ressources allochtones aux poissons top-prédateurs CRA, TA, CD, NND et SDNND, cf. *introduction*) mais également de nouvelles métriques prenant en compte la biomasse des organismes au sein des communautés (i.e. IRic, IDiv, IDis, IEve et IUni, cf. *métriques isotopiques fonctionnelles*).

L'analyse des données environnementales et de la structure des communautés a permis de définir plusieurs gradients de contraintes environnementales:

- **Gradient d'eutrophisation:** ce gradient était lié à la qualité physico-chimique de l'eau et opposait principalement des sites oligotrophes jeunes à des sites eutrophes plutôt âgés.
- **Gradient hydro-morphologique :** ce gradient était lié aux caractéristiques hydro-morphologiques des sites et opposait des lacs de petite taille et de forme presque circulaire à des lacs de grande taille et de forme complexe.
- **Gradient d'invasion de poissons:** ce gradient opposait des lacs peu envahis par des espèces de poissons non-natives (e.g. perche soleil, carpe, poisson-chat, black-bass) à des lacs fortement envahis.
- **Gradient d'invasion d'écrevisses:** ce gradient opposait des lacs peu envahis à des lacs fortement envahis par des écrevisses invasives (*Procambarus clarkii* et *Orconectes limosus*).

Les résultats ont montré que certaines des métriques isotopiques testées dans cette étude étaient sensibles aux différentes contraintes environnementales mesurées. Plus précisément, certaines métriques se sont révélées répondre de façon significative aux contraintes environnementales pour seulement une des deux années testées (**Tableau 3**). Dans ce contexte, seules les métriques capables de répondre de manière significative aux deux années d'étude et donc dans des circonstances différentes ont été considérées capable de répondre de manière fiable à la perturbation.

Concernant le gradient hydro-morphologique des plans d'eau, les analyses ont permis de démontrer que les métriques « CRA - contribution des ressources allochtones » et IRic étaient statistiquement corrélées à ce gradient (**Tableau 3**). Plus précisément, nous avons observé une diminution de CRA et une augmentation de IRic avec la taille du lac. Ces résultats semblent cohérents puisque d'une manière générale plus la taille de l'écosystème augmente, plus la quantité de matière allochtone qui entre dans le système proportionnellement à la production autochtone est faible. Ainsi, la contribution des ressources allochtones dans le réseau trophique diminue avec la taille du lac. L'augmentation de IRic avec la taille du lac est probablement due à une plus forte diversification des sources de nourriture disponibles lorsque la taille des lacs augmente, induisant une extension de la taille de la niche trophique de la communauté piscicole. Concernant le gradient d'eutrophisation, nous avons observé que la longueur de la chaîne trophique (FCL) augmentait significativement avec l'eutrophisation (**Tableau 3, Figure 12**). Ce résultat est en accord avec la littérature scientifique puisqu'il est généralement admis que plus la productivité primaire augmente, plus la longueur de la chaîne trophique augmente. Plusieurs

métriques ont significativement répondu au gradient d'invasion par les poissons non natifs (**Tableau 3**). Ainsi, FCL augmentait le long du gradient d'invasion (**Figure 12**), probablement dû à l'introduction de poissons prédateurs non natifs occupant une position élevée dans la chaîne trophique. A l'opposé, plusieurs métriques isotopiques (NND, IDis, IUni) ont répondu négativement à l'invasion de poissons non natifs. Ainsi, la distance isotopique au plus proche voisin, prenant ou non en compte la biomasse des poissons (IUni et NND, respectivement), diminuait significativement (**Tableau 3**). Ce résultat met en évidence une compétition trophique accrue entre les espèces lorsque les lacs sont envahis par des poissons non natifs et cette compétition trophique s'intensifie avec le degré d'invasion. Enfin, aucune métrique n'a répondu significativement pour les deux années consécutives à l'invasion par les écrevisses (**Tableau 3**). Néanmoins, la présence d'écrevisses non natives semble contribuer à augmenter la taille de la niche trophique de la communauté piscicole (augmentation de SEAc, année 2, **Figure 12**). En effet, les écrevisses non natives pourraient constituer une source de nourriture supplémentaire pour les poissons, induisant une diversification des ressources disponibles.

Aussi, nous avons observé l'existence de relations entre certaines métriques isotopiques et deux fonctions clés de l'écosystème (la décomposition de la litière et la stabilité de l'écosystème (appréhendée par une mesure de la variation temporelle des paramètres environnementaux) (**Figure 13**). Ainsi, deux métriques isotopiques (CRA et CD) semblaient reliées au fonctionnement de l'écosystème pour les deux années étudiées. CRA était liée à la décomposition de la litière alors que CD était quant à elle reliée à la stabilité de l'écosystème. La relation observée entre certaines métriques isotopiques et des mesures de fonctionnement de l'écosystème atteste de la dimension fonctionnelle des réseaux trophiques et confirme la perspective d'utiliser, à terme, des approches isotopiques comme indicateur de fonctionnement des écosystèmes. Ce résultat renseigne également sur la capacité de l'outil isotopique à synthétiser des interactions biologiques multiples et complexes en une ou plusieurs métriques simples.

Les résultats démontrent que certaines métriques sont sensibles à différents gradients de contraintes environnementales et pourraient effectivement être utilisées pour évaluer l'intégrité écologique des écosystèmes. Notamment, les métriques ont fourni des réponses cohérentes le long des différents gradients de contraintes environnementales testés. De plus, certaines métriques se sont révélées être sélectives et ne répondent qu'à une seule forme de contrainte environnementale (ex : la contribution allochtone (CRA) avec les caractéristiques hydro-morphologiques des lacs). A l'opposé, d'autres métriques semblent être plus intégratives, capables de répondre à plusieurs formes de contraintes comme la longueur de la chaîne alimentaire (FCL) qui pourrait être potentiellement utilisée comme une métrique « générale » de l'intégrité écologique des écosystèmes aquatiques. L'utilisation des nouvelles métriques pondérées par la biomasse des espèces semble pertinente, notamment dans les cas d'invasions biologiques. Pour fournir une évaluation fiable de l'intégrité écologique des écosystèmes aquatiques, il apparaît donc nécessaire que plusieurs métriques isotopiques complémentaires soient utilisées conjointement. Enfin, la relation entre certaines métriques isotopiques et des mesures clés du fonctionnement de l'écosystème confirment la pertinence de l'utilisation des isotopes stables comme indicateur de fonctionnement de l'écosystème. Dans un contexte où le développement d'indicateurs fonctionnels vise à intégrer la complexité du fonctionnement des milieux par la mesure d'un signal simple, l'analyse des isotopes stables semble dans ce cas être un outil prometteur.

3) Discussion (3 pages)

L'élaboration de bioindicateurs opérationnels est un processus long et complexe. Les projets de recherche portant sur les métriques isotopiques du réseau trophique s'inscrivent dans un tel processus et ont pour objectif commun de contribuer au développement de futurs bioindicateurs fonctionnels basés sur les interactions trophiques. Grâce à ces trois projets de recherche qui

balaient différents types d'écosystèmes (plans d'eau et cours d'eau) et différentes échelles spatiales (locale, régionale, nationale), plusieurs étapes ont maintenant été franchies. Tout d'abord, en utilisant des métriques isotopiques, il a été possible pour chaque projet de mesurer l'évolution de différentes facettes de la diversité trophique en fonction des contraintes environnementales. Elles ont permis d'**intégrer** à la fois **les modifications structurelles et fonctionnelles** induites par ces contraintes. Deuxièmement, même si les réponses des métriques aux contraintes restent encore difficiles à généraliser, il a été possible d'identifier quelques patrons de variations communs à différents projets. Ainsi, la synthèse des trois projets révèle la sensibilité de certaines métriques isotopiques à **quatre types de contraintes** (la taille de l'écosystème, le niveau de concentration en nutriments, les altérations morphologiques et l'invasion par des espèces non-natives). Concernant la **taille de l'écosystème** (appréhendée par le gradient amont-aval pour les cours d'eau et par le gradient hydro-morphologique pour les plans d'eau), l'influence positive sur la diversité trophique (appréhendée par les métriques TA et IRic dans les cours d'eau et plans d'eau respectivement) s'explique par une augmentation de la diversité des ressources pour les plans d'eau et par un changement de structure de la communauté (augmentation du nombre d'espèces) pour les cours d'eau. Concernant l'effet du **niveau de concentration en nutriments/eutrophisation** dans l'écosystème, les résultats obtenus révèlent qu'il s'explique par une modification de la disponibilité des ressources à la base du réseau trophique. Au niveau des plans d'eau, la concentration en nutriment favorise la production primaire, augmentant la disponibilité de la matière organique autochtone et en ressources trophiques, induisant un accroissement de la longueur de chaîne trophique (i.e. FCL) le long du gradient d'eutrophisation. Au niveau des cours d'eau, les pollutions organiques sont supposées accroître la diversité des ressources disponibles, ce qui entraîne une augmentation plus rapide de la diversité trophique avec le nombre d'espèces. Par ailleurs, les différents projets s'accordent pour supposer que les **altérations morphologiques** anthropiques (plus particulièrement étudiées dans le cadre des cours d'eau) conduisent à une diminution de la diversité des habitats ainsi que des ressources disponibles, ce qui pourrait expliquer la diminution de la diversité trophique. Dans le cas des cours d'eau, les résultats obtenus montrent également que la perte des ressources allochtones provenant de la ripisylve (et donc la diminution des ressources disponibles) explique pour partie l'effet négatif de l'anthropisation des bassins versants sur la diversité trophique. Enfin l'impact important des **invasions par des espèces non-natives** sur la diversité trophique mis en évidence dans le cadre des plans d'eau fait appel à la modification de la structure de la communauté pour expliquer l'allongement de la longueur de chaîne trophique (i.e. métrique FCL) par l'addition de nouveaux poissons prédateurs dans le réseau trophique. Un accroissement de la compétition trophique entre les espèces (mesuré par les métriques NND, IDis et IUni) semble également être un phénomène induit par les invasions biologiques. En troisième lieu, les résultats des trois projets montrent que les métriques isotopiques **répondent différemment aux contraintes environnementales et anthropiques**. Ceci est un point positif qui laisse envisager l'utilisation future des métriques isotopiques comme outil de diagnostic permettant non seulement de détecter l'ampleur des pressions anthropiques, mais également de déterminer le(s) type(s) de pressions en jeux. Ainsi, le projet sur les plans d'eau a permis d'identifier des métriques qui répondent uniquement à un type précis de contrainte, permettant de diagnostiquer l'existence de la contrainte correspondante. Par exemple, les métriques CRA et IRic ont répondu uniquement aux contraintes hydro-morphologiques tandis que les métriques NND, IDis et IUni se sont révélées répondre spécifiquement aux invasions de poissons non natifs. A l'opposé, des métriques plus intégratives (i.e. FCL) qui sont sensibles à plusieurs types de contraintes, pourraient permettre d'évaluer le niveau général des contraintes s'exerçant sur l'écosystème. Toutefois, l'existence de réponses différentes pour une même métrique isotopique témoigne également de la complexité des mécanismes mis en jeu et est susceptible de brouiller fortement l'interprétation des résultats. Si ce résultat se confirme par la suite, l'utilisation d'un panel de différentes métriques isotopiques serait alors une solution permettant d'aboutir à un diagnostic. Les résultats obtenus ont également permis de mettre en évidence des **interrogations** qui nécessiteront de **nouveaux efforts de recherche**. Il s'agit principalement de la variabilité interannuelle des métriques isotopiques et de l'absence de réponse des métriques aux situations de restauration.

Dans le premier cas, deux des trois projets ont observé une variation dans les réponses des métriques en fonction de l'année d'échantillonnage, mais les résultats n'ont pas permis de déterminer si cette variabilité temporelle était intrinsèque à la diversité trophique et des réseaux trophiques ou si elle traduisait des modifications interannuelles de l'environnement. Il apparaît donc important d'organiser un suivi temporel de plusieurs sites afin de mieux appréhender les causes de variabilité interannuelle des métriques isotopiques. Dans le cas des situations de restauration, la faible réponse des métriques peut s'expliquer par plusieurs hypothèses qu'il reste à examiner. En particulier, le temps de suivi des actions de restauration a peut-être été insuffisant pour détecter une réponse des métriques isotopiques, ou les actions de restauration n'ont peut-être pas été assez efficaces pour influencer les métriques isotopiques. Enfin, une avancée importante a également été faite à travers la création de nouvelles métriques isotopiques qui permettent une quantification rigoureuse et fine de la structure et du fonctionnement des réseaux trophiques. Ces métriques offrent notamment la possibilité de prendre en compte de manière explicite l'abondance (ou la biomasse) des organismes pour le calcul des métriques. L'utilisation de ces nouvelles métriques, testée sur les plans d'eau, semble pertinente et a notamment prouvé son efficacité dans le cas d'invasion par des espèces non natives.

Malgré les progrès importants réalisés par les trois projets, la création d'un nouveau bioindicateur nécessite encore de préciser plusieurs points. Tout d'abord il faut s'orienter vers un **choix de métriques isotopiques restreint**. En particulier, il faut confirmer le caractère « diagnostic » (métrique spécifique d'un type de pression) ou « généraliste » (métrique sensible à différents types de pressions) de chacune des métriques potentielles comme cela a été fait dans le projet ISOLAC. Dans ce contexte, de nouvelles métriques (*cf. métriques isotopiques fonctionnelles*) pourraient être testées dans le cas des cours d'eau afin de confirmer le caractère diagnostic de certaines métriques isotopiques. À ce sujet, il faudra notamment décider s'il est possible d'obtenir un panel de métriques communs aux plans d'eau et cours d'eau, ou s'il est plus judicieux de faire une sélection différente pour chaque type d'écosystèmes. De plus, les trois projets ont balayés divers types de métriques isotopiques mais se sont essentiellement concentrés sur la communauté de poissons. Inclure d'autres compartiments comme celui des macro-invertébrés dans le calcul des métriques isotopiques, voire calculer des métriques isotopiques dédiées aux macro-invertébrés reste donc à étudier. Une fois la sélection de métriques effectuée, il faudra **affiner les relations contraintes-métriques** obtenues. L'objectif sera d'obtenir des modèles statistiques prédictifs des réponses des métriques isotopiques. Pour ce faire, il faudra vérifier la transférabilité des résultats locaux vers des échelles spatiales plus vastes et étudier la répétabilité des résultats. Cela impliquera d'étoffer le jeu de données existant, en augmentant notamment le nombre de sites soumis à de fortes altérations anthropiques, en améliorant la couverture du territoire national par les sites étudiés. D'après les résultats des projets, les contraintes environnementales à privilégier dans un premier temps sont la taille de l'écosystème, les ressources disponibles (niveau de concentration/diversité), les invasions biologiques et les altérations morphologiques.

Enfin, un point essentiel sera de déterminer **l'apport des métriques isotopiques dans l'évaluation de l'état écologique** des écosystèmes aquatiques. Il faudra notamment examiner si ces métriques apportent des informations complémentaires aux bioindicateurs actuels basés sur la structure des communautés. En particulier, les métriques isotopiques sont-elles capables de mettre en évidence des altérations qui ne seraient pas détectables par les bioindicateurs actuels ? Ou encore, les métriques isotopiques peuvent-elles servir d'indicateur précoce de modification de l'état écologique ? L'hypothèse sous-jacente à ces deux questions repose sur le caractère intégrateur des métriques isotopiques, tenant compte à la fois de la structure et du fonctionnement. D'autres outils mesurant des aspects différents du fonctionnement des écosystèmes (par exemple, taux de dégradation de la matière organique, production primaire) sont actuellement en développement et il faudra également étudier la complémentarité des outils isotopiques avec ces mesures plus ciblées du fonctionnement biologique. Dans ce contexte,

l'existence de relations observées entre certaines métriques isotopiques et des mesures clés du fonctionnement de l'écosystème (i.e. la décomposition de la litière et la stabilité de l'écosystème) est un résultat encourageant qui atteste de la dimension fonctionnelle des métriques isotopiques.

D'un **point de vue opérationnel**, un travail d'optimisation/simplification de l'outil isotopique est également nécessaire. Par exemple, à l'étape de sélection des métriques isotopiques, il faudra s'attacher à limiter le plus possible le nombre de compartiments prélevés et analysés, dans un souci de simplicité et d'économie. Enfin, une fois toutes ces questions traitées, un travail non négligeable de transfert des méthodes et protocoles expérimentaux sera indispensable à une utilisation « en routine », dans le cadre des réseaux de suivi.

4) Moyens techniques, moyens humains et couts (1 page)

Les outils et méthodes nécessaires à l'obtention des métriques isotopiques sont maintenant bien établis. Les analyses isotopiques qui nécessitent un équipement particulier (spectromètre de masse à rapport isotopique) se sont récemment démocratisées et sont maintenant réalisables dans de nombreux laboratoires dans des délais et avec des coûts raisonnables. Les moyens humains disponibles apparaissent dès lors comme le principal facteur limitant la mise en œuvre des métriques isotopiques. De l'échantillonnage jusqu'à l'analyse des résultats isotopiques, trois phases différentes requièrent des moyens humains non négligeables.

La première phase consiste à **collecter les échantillons**. Dans le cas où la sélection des métriques aboutirait à ne considérer que la communauté de poissons, l'échantillonnage peut se dérouler lors des inventaires piscicoles réalisés dans le cadre des réseaux de suivi. Celui-ci consiste à prélever les nageoires d'au minimum 5 individus par espèce, et n'implique aucun équipement particulier supplémentaire (excepté une glacière pour la conservation des échantillons). Dans le cas d'un faible nombre d'espèces dans la communauté de poissons, aucun moyen humain supplémentaire n'est nécessaire par rapport à ceux demandés par l'inventaire (1 à 3 espèces), cependant à partir d'un nombre d'espèces plus conséquent, la présence d'une personne supplémentaire est fortement recommandée. A noter que les moyens humains et matériels pour l'échantillonnage de la communauté piscicole peuvent être très importants, notamment dans le cas des plans d'eau et grands cours d'eau. De plus, si les métriques isotopiques concernent également les macro-invertébrés, ou les ressources à la base du réseau trophique, un autre échantillonnage spécifique à ces taxons sera nécessaire. Les moyens techniques de cet échantillonnage se résument essentiellement au matériel couramment utilisé pour la collecte des macro-invertébrés aquatiques (filet surber par exemple) mais peuvent être conséquents dans le cadre de grands milieux. Au niveau des moyens humains, les trois projets ont permis d'établir qu'il fallait au minimum 3-5 heures à deux personnes expérimentées pour réaliser cet échantillonnage.

Après la collecte, les échantillons sont conservés au congélateur avant de les **préparer pour les analyses isotopiques**. Cette deuxième phase du processus d'obtention des métriques isotopiques est un travail de laboratoire qui consiste à rincer, sécher, broyer puis peser-encapsuler les échantillons. Le rinçage se fait simplement avec de l'eau distillée. Le séchage peut se faire grâce à un lyophilisateur et le broyage avec un broyeur mécanique, ce qui permet de traiter plusieurs échantillons en même temps. Enfin la pesée-encapsulage se fait avec une balance de précision (au microgramme) et consiste à placer une quantité déterminée d'échantillon dans une capsule d'étain. Il faut également noter que l'utilisation de dessiccateurs est fortement conseillée, pour conserver les échantillons lyophilisés dans de bonnes conditions. Cette phase du travail doit être réalisée de manière très précautionneuse pour éviter toute contamination des échantillons. Il en résulte que la préparation d'un seul échantillon dans son ensemble requière au minimum 25 minutes du temps de travail d'une personne expérimentée. Dans le cas de certains taxons, il faut

même y ajouter 10 minutes pour réaliser une étape supplémentaire (par exemple pour les gastéropodes, il faut sortir l'animal de sa coquille).

Une fois que les échantillons ont été préparés, ils sont analysés. Cette phase n'a pas été comptabilisée dans le processus car elle est généralement externalisée vers des laboratoires spécialisés en analyses isotopiques (deux des trois projets de recherche ont fait ce choix). Cette solution présente l'avantage de ne nécessiter aucun moyen technique et humain supplémentaire, même si elle implique la perte de contrôle d'une partie du processus d'analyse. Le coût actuel est d'environ 10 euros pour l'analyse d'un échantillon. Pour résumer, l'obtention des métriques isotopiques pour un site comprenant 7 espèces de poisson soit 35 échantillons, demandera 3,5 jours de travail d'une personne expérimentée pour un coût d'analyses isotopiques de 350 euros.

5) Point de vue des gestionnaires (1/2 page)

A AJOUTER PAR ONEMA

Encadré 1 : Principes généraux de l'utilisation des isotopes stables en écologie trophique

Les isotopes stables d'un même élément sont définis comme étant des formes ayant un nombre de protons identique mais un nombre de neutrons différent. Ainsi, pour un élément donné, il existe un isotope « léger » (moins de neutrons) et un isotope « lourd » (plus de neutrons). On utilise le rapport isotope lourd / isotope léger d'un élément, que l'on compare à un standard international, pour exprimer le ratio isotopique d'un échantillon (δ en ‰) :

$$\delta X = \left(\frac{R_{\text{échantillon}}}{R_{\text{standard}}} - 1 \right) \times 1000$$

où $X = {}^{13}\text{C}$ ou ${}^{15}\text{N}$ et $R = {}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C}$ ou ${}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N}$ pour le carbone et l'azote, respectivement.

Les propriétés chimiques des isotopes d'un même élément sont identiques car ils ont le même nombre d'électrons et de protons. En revanche, la différence de masse entre isotopes (nombre de neutrons) engendre des propriétés cinétiques et thermodynamiques légèrement différentes et les molécules contenant les isotopes légers sont plus réactives. Ainsi, au cours du métabolisme, l'isotope léger (${}^{12}\text{C}$ et ${}^{14}\text{N}$) est préférentiellement utilisé et les organismes s'enrichissent alors en isotope lourd (${}^{13}\text{C}$ et ${}^{15}\text{N}$) selon le principe de bioaccumulation. Cet enrichissement en isotope lourd (ou fractionnement isotopique) crée une différence de composition isotopique entre une ressource trophique et son consommateur. Ainsi, lorsqu'un consommateur ingère et assimile sa nourriture, il y a un transfert d'énergie trophique qui s'accompagne d'un fractionnement isotopique, de valeur variable en fonction de l'isotope considéré (Dufour et Gerdeaux 2001). L'analyse des isotopes stables est donc une méthode indirecte utilisée en écologie pour reconstruire les liens trophiques basée sur l'existence d'une relation prédictible entre les compositions isotopiques des tissus des consommateurs et celles de leurs ressources trophiques (De Niro et Epstein, 1978, 1981).

Alors que de nombreux éléments peuvent être utilisés en écologie trophique (carbone $\delta^{13}\text{C}$, azote $\delta^{15}\text{N}$, hydrogène δD , oxygène $\delta^{18}\text{O}$ et soufre $\delta^{34}\text{S}$) (Smith and Epstein, 1970 ; Peterson and Fry, 1987), le carbone et l'azote sont les principaux éléments utilisés car ils fournissent une vision complémentaire. L'azote (ratio isotopique $\delta^{15}\text{N}$), qui possède un enrichissement d'environ + 3 ‰ entre un consommateur et ses ressources, est utilisé comme un indicateur de la position trophique (Minagawa & Wada, 1984; Peterson & Fry 1987; Post 2002). Le carbone (ratio isotopique $\delta^{13}\text{C}$) qui varie peu le long de la chaîne trophique est utilisé pour déterminer l'origine des ressources consommées (e.g. terrestre vs. aquatique, benthique vs. pélagique, De Niro & Epstein 1978; Peterson & Fry 1987; Post 2002). Ainsi, l'utilisation couplée des isotopes stables du carbone et de l'azote des membres d'un réseau trophique permet de retracer les flux d'énergie depuis les producteurs primaires jusqu'aux prédateurs.

La préparation des échantillons dépend principalement du type d'échantillon à analyser mais d'une manière générale, le protocole à suivre est le suivant : les tissus biologiques prélevés (morceaux de muscle ou de nageoire, animaux entiers pour les invertébrés) doivent dans un premier temps être nettoyés à l'eau milli-Q puis séchés à l'étuve ou par lyophilisation. Les échantillons secs sont ensuite broyés, soit avec un broyeur à billes, soit en utilisant un pilon et un mortier, pour être réduits en une poudre très fine et homogène. La dernière étape consiste à peser et enfermer dans des capsules d'étain environ 1 mg de poudre de chaque échantillon. Selon le type d'échantillon à analyser, des étapes supplémentaires peuvent être nécessaires (élimination des carbonates ou des lipides qui peuvent fausser les analyses isotopiques). Les mesures des rapports isotopiques des échantillons analysés sont ensuite réalisées par un analyseur élémentaire couplé à un spectromètre de masse isotopique.

Figures

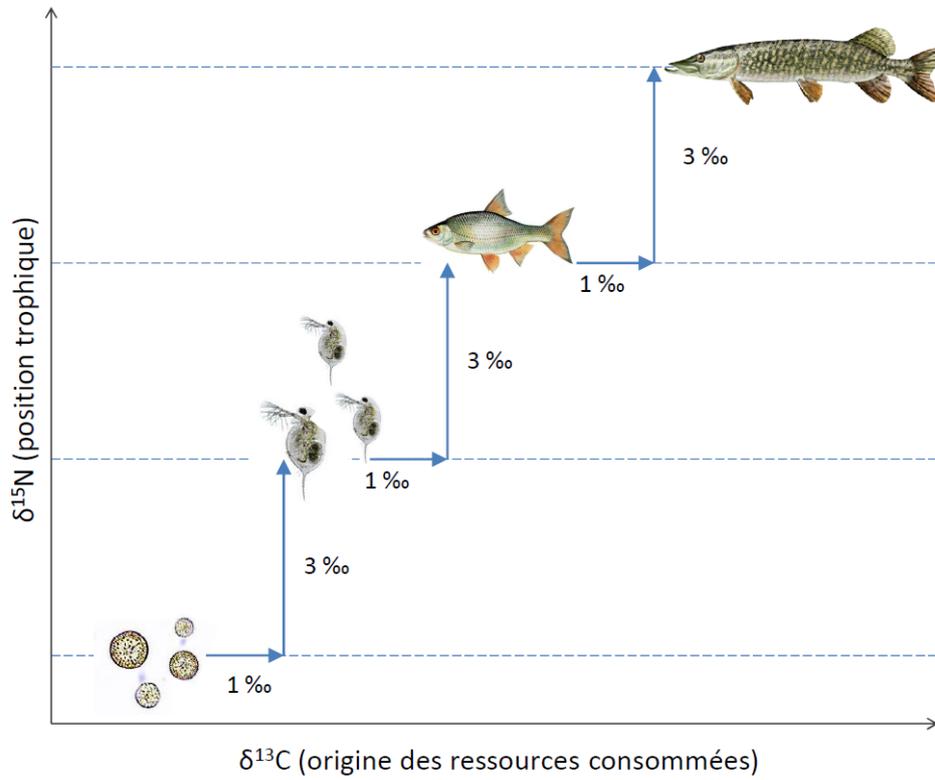


Figure 1 : Représentation schématique d'une chaîne trophique aquatique mesurée à l'aide des isotopes stables du carbone ($\delta^{13}\text{C}$) et de l'azote ($\delta^{15}\text{N}$).

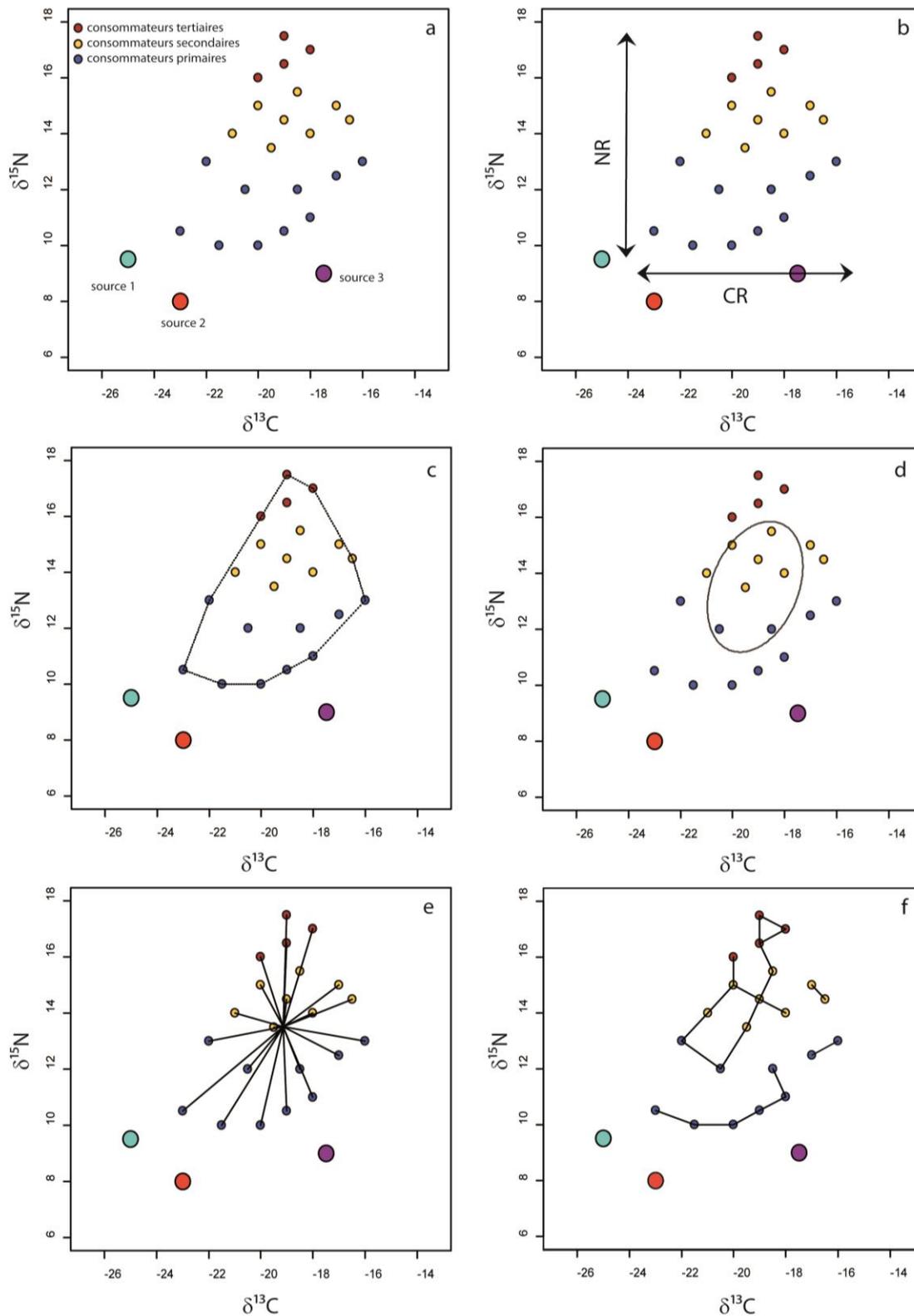


Figure 2 : Représentation schématique (a) d'un réseau trophique avec les valeurs en $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ des différents organismes et des différentes métriques quantitatives (Layman et al. (2007), Jackson et al. (2011)) : (b) range des valeurs $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ (CR et NR), (c) surface convexe (TA), (d) « standard ellipse area » (SEA), (e) distance au centroïde du nuage (CD) et (f) distance moyenne du plus proche voisin (NND).

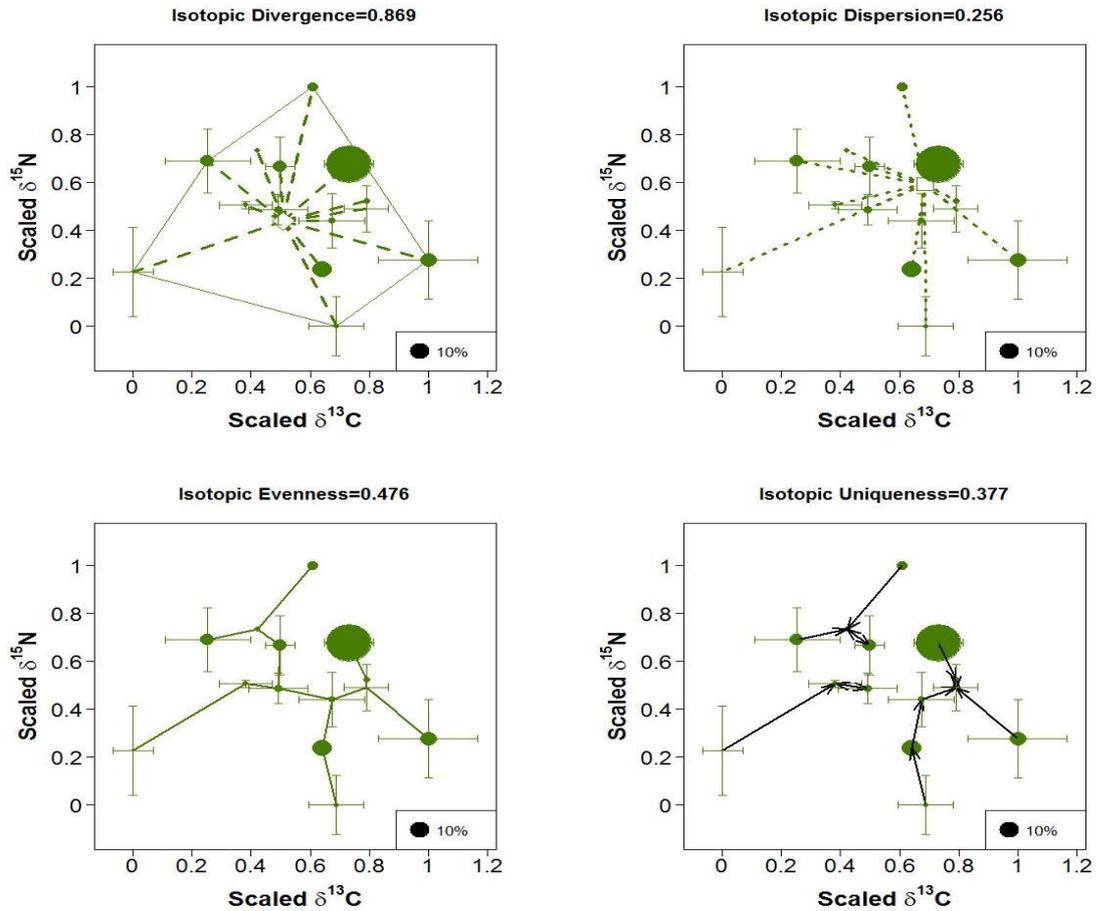


Figure 3: Valeurs isotopiques des différentes espèces d'une communauté de poissons (Projet ISOLAC). La taille des points est proportionnelle à la biomasse relative de chaque espèce dans la communauté et est utilisée, avec les valeurs isotopiques pour calculer les métriques suivantes : divergence isotopique (*IDiv*), dispersion isotopique (*IDis*), régularité isotopique (*IEve*) et unicité isotopique (*IUni*).

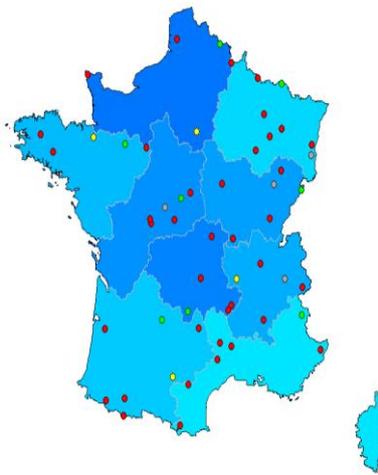


Figure 4: Répartition géographique des 54 sites étudiés selon leur niveau d'altération (rouge : peu altéré, vert : pollution organique, gris : altération morphologique, jaune : cumul des deux pressions).

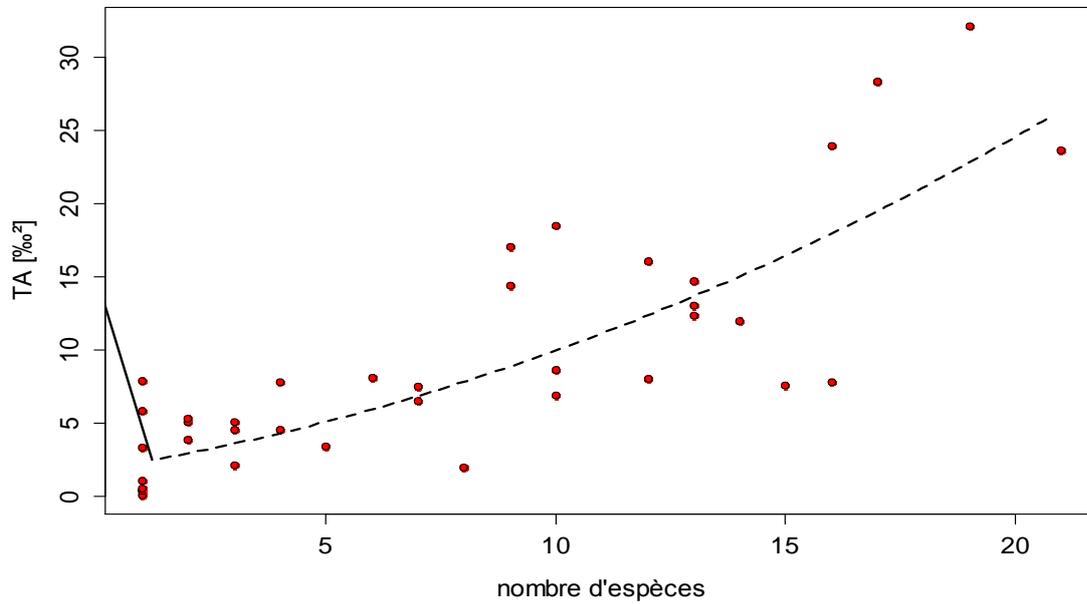


Figure 5: Évolution de TA en fonction du nombre d'espèces présentes dans la communauté de poisson. Le modèle est significatif et explique 66% de la variation observée.

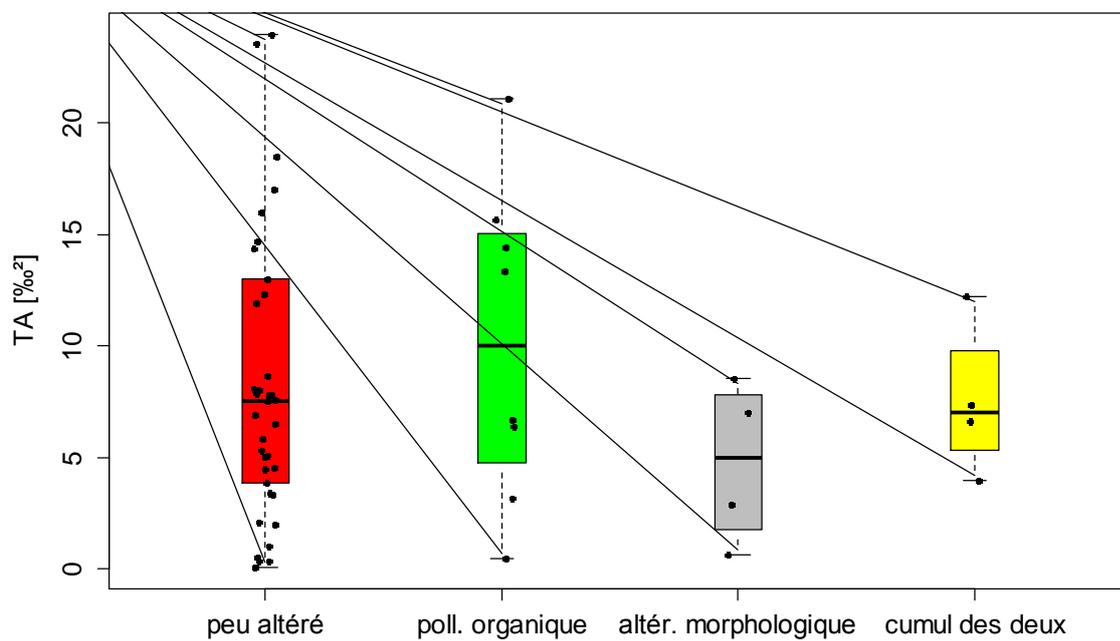


Figure 6: Distribution des valeurs de TA en fonction du type d'altération.

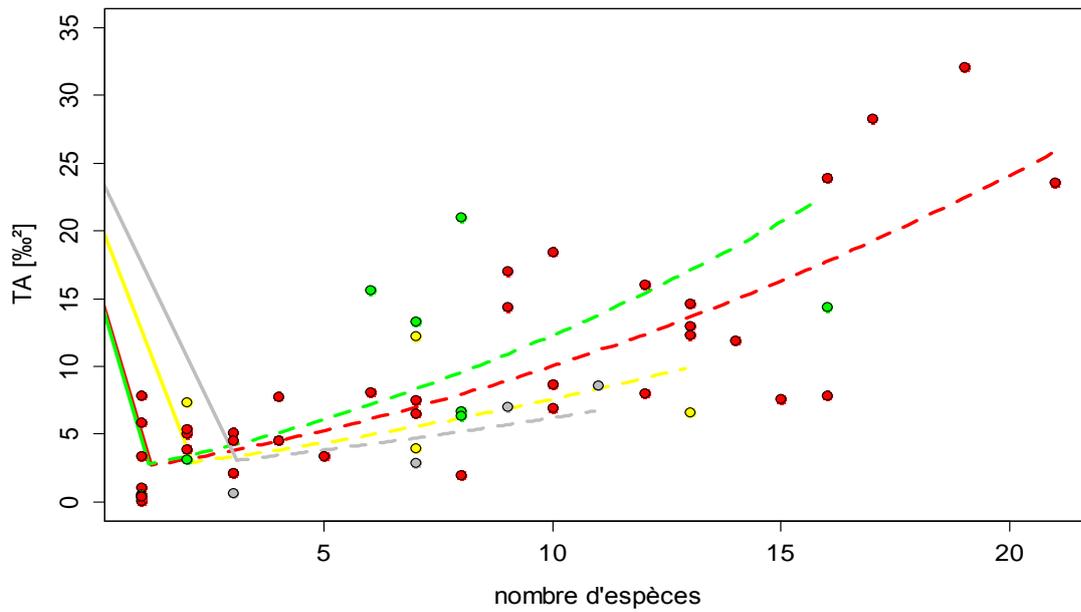


Figure 7: Évolution de TA en fonction du nombre d'espèces présentes dans la communauté de poisson selon le type de pression anthropique (rouge : peu altérés, vert : pollution organique, gris : altération morphologique, jaune : cumul des deux pressions). Les lignes en pointillés représentent les relations obtenues entre TA et le nombre d'espèces.



Figure 8 : Exemple de station restaurée : la Barguelonne à Sauveterre.

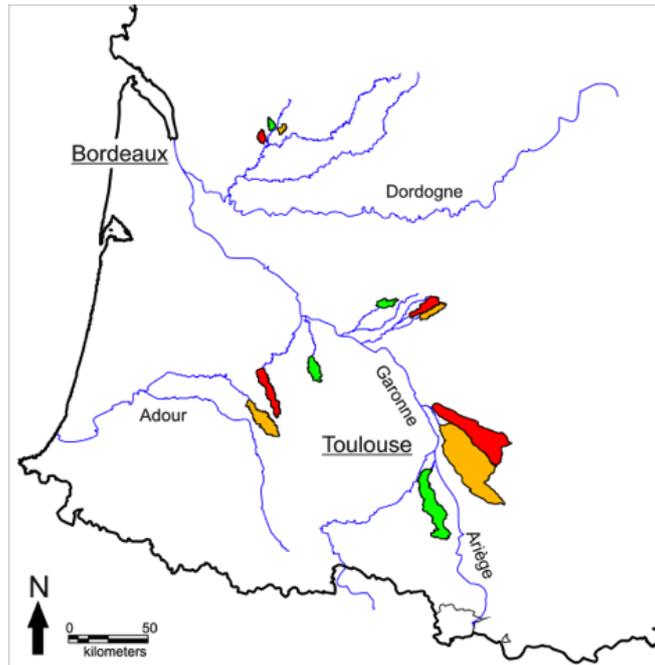


Figure 9 : Carte du bassin Adour-Garonne et localisation des bassins versants étudiés avec les stations altérées (rouge), restaurées (orange) et non altérées (vert).

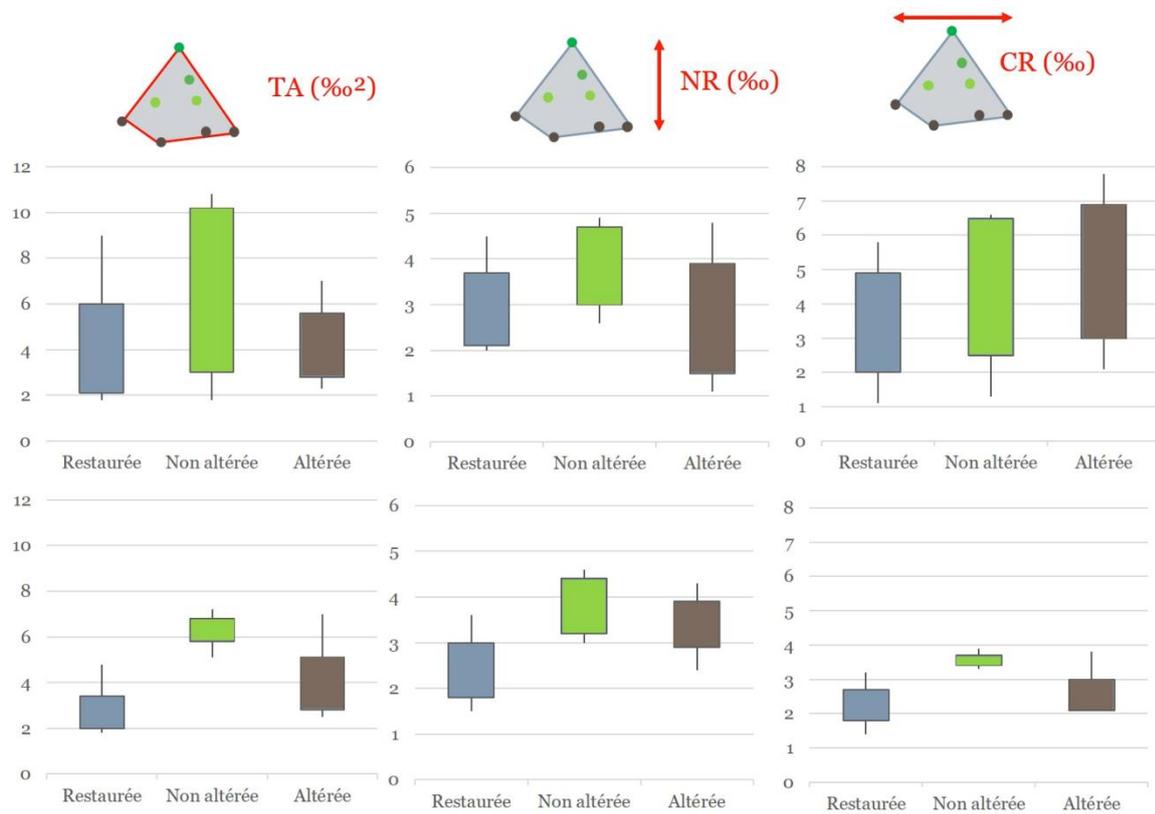


Figure 10 : Distributions des valeurs de TA, NR et CR en fonction des trois états considérées (restaurée, non altérée, altérée) en 2013 (ligne du haut) et en 2014 (ligne du bas).

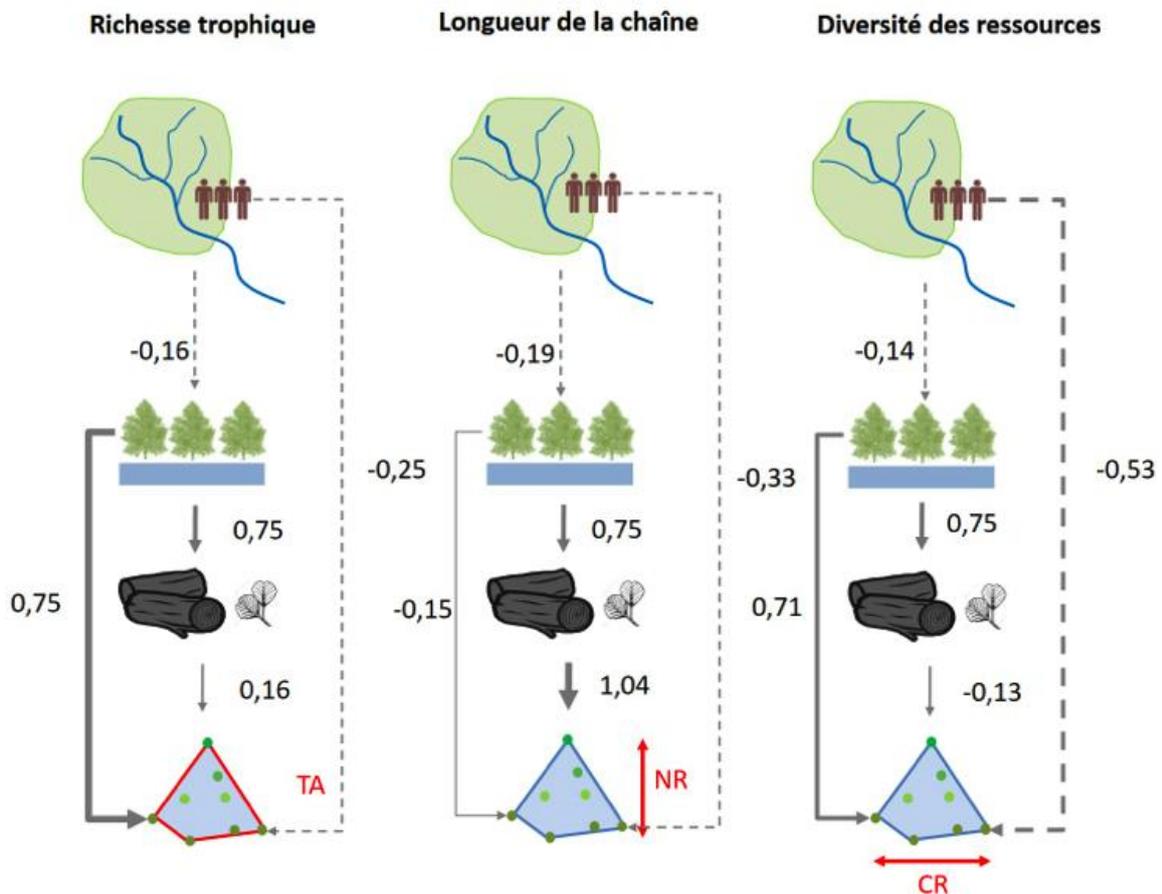


Figure 11: Graphiques résumant les résultats des PLS-PM. Chaque coefficient pondère les effets

d'une variable latente sur une autre. Les trois graphiques correspondent aux trois métriques étudiées. La taille des flèches indique l'intensité du coefficient, les effets positifs sont représentés par des traits pleins et les effets négatifs par des pointillés.

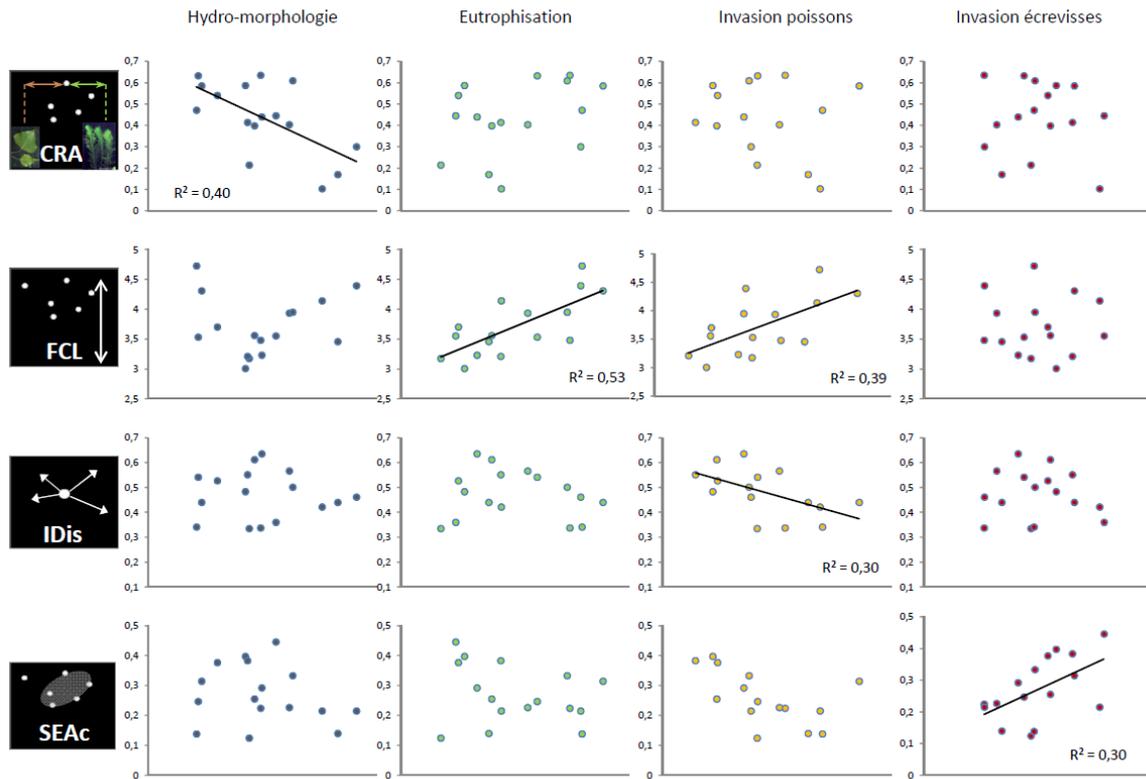


Figure 12 : Exemples de réponse des métriques isotopiques aux différents gradients de contraintes environnementales étudiés.

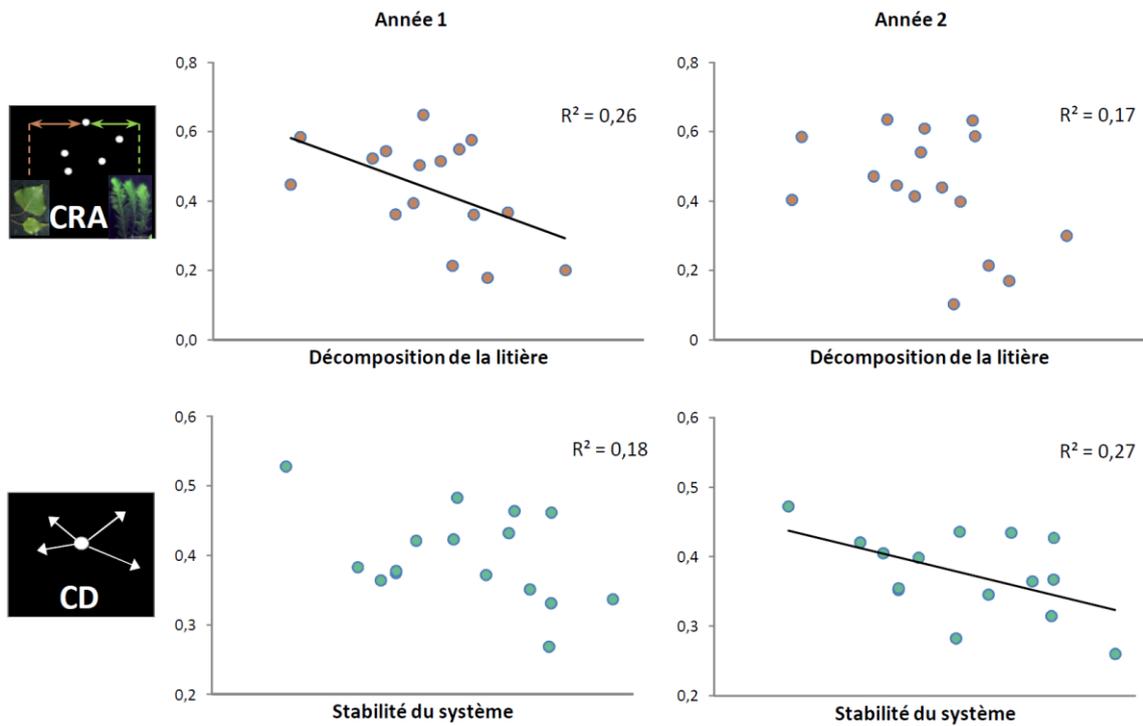


Figure 13 : Exemples de relations entre métriques isotopiques (i.e. CRA et CD) et fonctionnement de l'écosystème (i.e. décomposition de la litière et stabilité dans le temps du système).

Tableau 1: Exemples de réponses des métriques isotopiques à différents types de perturbations dans les écosystèmes aquatiques.

Perturbation	Ecosystème	Organisme	Métriques isotopiques*					Référence
			TP	CR	NR	TA	NND	
Eutrophisation	Lentique	Invertébrés Poissons		→	↘	↘		Rawcliffe et al. (2010)
Eutrophisation	Lentique	Poissons	↗					Freedman et al. (2012)
Pollution minière	Lotique	Invertébrés Poissons			↘	↘	↗	Hogsden & Harding (2014)
Fragmentation	Lentique	Poissons		↘	↘	↘		Layman et al. (2007b)
Invasion (écrevisses)	Lentique	Poissons	↘					Kreps et al. (2016)
Invasion (poissons)	Lentique	Poissons	↘					Vander Zanden et al. (1999)
Invasion (macrophytes)	Lentique	Invertébrés Poissons	→			↗		Kovalenko & Dibble (2011)

* TP = position trophique, CR = range de valeurs en carbone, NR = range de valeurs en azote, TA = surface convexe, NND = distance moyenne du plus proche voisin.

Tableau 2: Informations sur les nouvelles métriques de diversité isotopiques et de chevauchement isotopiques.

Métrique	Code	Unité	Range	Fonction R
Divergence isotopique	IDiv	Sans unité	[0; 1]	IDiversity
Dispersion isotopique	IDis	‰	[0; +∞[IDiversity
Régularité isotopique	IEve	Sans unité	[0; 1]	IDiversity
Unicité isotopique	IUni	Sans unité	[0; 1]	IDiversity
Similarité isotopique	ISim	Sans unité	[0; 1]	IOverlap
Nestedness isotopique	ITurn	Sans unité	[0; 1]	IOverlap

Tableau 3 : Réponse des métriques isotopiques aux différents gradients de contraintes environnementales. Code couleur : rouge = pas de relation significative entre la métrique isotopique testée et le gradient de contrainte environnementale, orange = relation statistiquement significative pour une seule des deux années étudiées, vert = relation statistiquement significative pour les deux années étudiées. Lorsque la relation est significative pour les deux années d'étude, le signe de la relation est indiqué entre parenthèses.

	Métrique isotopique	Hydro-morphologie	Eutrophisation	Invasion poissons	Invasion écrevisses
Métriques usuellement employées en écologie des réseaux trophiques	SEAc	●	●	●	●
	FCL	●	● (+)	● (+)	●
	CRA	● (-)	●	●	●
	TA	●	●	●	●
	CD	●	●	●	●
	NND	●	●	● (-)	●
	SDNND	●	●	●	●
Nouvelles métriques prenant en compte la biomasse des espèces	IRic	● (+)	●	●	●
	IDis	●	●	● (-)	●
	IDiv	●	●	●	●
	IEve	●	●	●	●
	IUni	●	●	● (-)	●

Références bibliographiques (25 max.)

- Bearhop, S., Adams, C.E., Waldron, S., Fuller, R.A., Macleod, H., 2004. Determining trophic niche width: a novel approach using stable isotope analysis. *Journal of Animal Ecology* 73, 1007-1012.
- Cucherousset, J., Villeger, S., 2015. Quantifying the multiple facets of isotopic diversity: New metrics for stable isotope ecology. *Ecological Indicators* 56, 152-160.
- Deniro, M.J., Epstein, S., 1978. Influence of diet on distribution of carbon isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 42, 495-506.
- Deniro, M.J., Epstein, S., 1981. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 45, 341-351.
- Dufour, E., and Gerdeaux, D. 2001. Apports des isotopes stables ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$, $^{36}\text{S}/^{34}\text{S}$, $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) aux études écologiques sur les poissons. *Cybium* 25, 369-382.
- Freedman, J.A., Curry, R.A., Munkittrick, K.R., 2012. Stable isotope analysis reveals anthropogenic effects on fish assemblages in a temperate reservoir. *River Research and Applications* 28, 1804-1819.
- Hector, A., Schmid, B., Beierkuhnlein, C., Caldeira, M.C., Diemer, M., Dimitrakopoulos, P.G., Finn, J.A., Freitas, H., Giller, P.S., Good, J., Harris, R., Hogberg, P., Huss-Danell, K., Joshi, J., Jumpponen, A., Korner, C., Leadley, P.W., Loreau, M., Minns, A., Mulder, C.P.H., O'Donovan, G., Otway, S.J., Pereira, J.S., Prinz, A., Read, D.J., Scherer-Lorenzen, M., Schulze, E.D., Siamantziouras, A.S.D., Spehn, E.M., Terry, A.C., Troumbis, A.Y., Woodward, F.I., Yachi, S., Lawton, J.H., 1999. Plant diversity and productivity experiments in European grasslands. *Science* 286, 1123-1127.
- Hogsden, K.L., Harding, J.S., 2014. Isotopic metrics as a tool for assessing the effects of mine pollution on stream food webs. *Ecological Indicators* 36, 339-347.
- Kovalenko, K.E., Dibble, E.D., 2011. Effects of invasive macrophyte on trophic diversity and position of secondary consumers. *Hydrobiologia* 663, 167-173.
- Kreps, T.A., Larson, E.R., Lodge, D.M., 2016. Do invasive rusty crayfish (*Orconectes rusticus*) decouple littoral and pelagic energy flows in lake food webs? *Freshwater Science* 35, 103-113.
- Layman, C.A., Araujo, M.S., Boucek, R., Hammerschlag-Peyer, C.M., Harrison, E., Jud, Z.R., Matich, P., Rosenblatt, A.E., Vaudo, J.J., Yeager, L.A., Post, D.M., Bearhop, S., 2012. Applying stable isotopes to examine food-web structure: an overview of analytical tools. *Biological Reviews* 87, 545-562.
- Layman, C.A., Arrington, D.A., Montana, C.G., Post, D.M., 2007a. Can stable isotope ratios provide for community-wide measures of trophic structure? *Ecology* 88, 42-48.
- Layman, C.A., Quattrochi, J.P., Peyer, C.M., Allgeier, J.E., 2007b. Niche width collapse in a resilient top predator following ecosystem fragmentation. *Ecology Letters* 10, 937-944.
- Minagawa, M., Wada, E., 1984. Stepwise enrichment of ^{15}N along food chains: Further evidence and the relation between $\delta^{15}\text{N}$ and animal age. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 48, 1135-1140.
- Newsome, S.D., del Rio, C.M., Bearhop, S., Phillips, D.L., 2007. A niche for isotopic ecology. *Frontiers in Ecology and the Environment* 5, 429-436.
- Peterson, B.J., Fry, B., 1987. Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18, 293-320.
- Phillips, D.L., Gregg, J.W., 2003. Source partitioning using stable isotopes: coping with too many sources. *Oecologia* 136, 261-269.
- Post, D.M., 2002. Using stable isotopes to estimate trophic position: Models, methods, and assumptions. *Ecology* 83, 703-718.
- Post, D.M., Pace, M.L., Hairston, N.G., 2000. Ecosystem size determines food-chain length in lakes. *Nature* 405, 1047-1049.
- Rawcliffe, R., Sayer, C.D., Woodward, G., Grey, J., Davidson, T.A., Jones, J.I., 2010. Back to

- the future: using palaeolimnology to infer long-term changes in shallow lake food webs. *Freshwater Biology* 55, 600-613.
- Smith, B.N., Epstein, S., 1970. Biogeochemistry of the stable isotope of hydrogen and carbon in salt marsh biota. *Plant Physiol.* 46, 739-742.
- Thompson, R.M., Brose, U., Dunne, J.A., Hall, R.O., Hladyz, S., Kitching, R.L., Martinez, N.D., Rantala, H., Romanuk, T.N., Stouffer, D.B., Tylianakis, J.M., 2012. Food webs: reconciling the structure and function of biodiversity. *Trends in Ecology & Evolution* 27, 689-697.
- Tilman, D., Reich, P.B., Knops, J.M.H., 2006. Biodiversity and ecosystem stability in a decade-long grassland experiment. *Nature* 441, 629-632.
- Vander Zanden, M.J., Casselman, J.M., Rasmussen, J.B., 1999. Stable isotope evidence for the food web consequences of species invasions in lakes. *Nature* 401, 464-467.

Annexe 2 : Principes de calcul d'une nouvelle métrique de l'aire de l'espace isotopique

Calculation of isotopic metrics

Online resource of the article:

Biological impacts of local vs. regional land use on a small tributary of the Seine River (France): insights from a food web approach based on stable isotopes

Environmental Science and Pollution Research

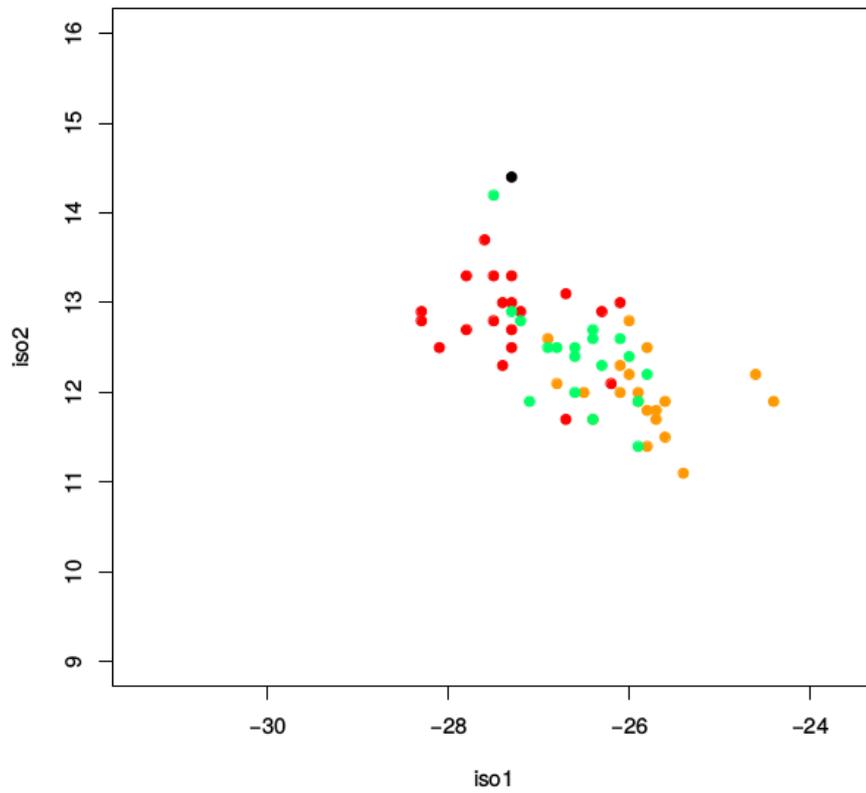
Hette-Tronquart N., Oberdorff T., Tales E., Zahm A., Belliard J.

Correspondence to : Nicolas Hette-Tronquart, UR HBAN - Irstea
nicolas.hette@edu.mnhn.fr

Here we presented how we calculated the isotopic metrics of the fish food web. Our method is based on the Bayesian approach developed in the 'SIBER' R-package of Jackson *et al.* (2011). The idea was to use the 'siberMVN' function to simulate standard ellipses. Hereafter, we detailed our approach with a dataset involving 1 community of 4 species.

```
#loading the data
exo <- as.data.frame(cbind(
  c(-27.3,-27.8,-27.2,-28.3,-27.5,-27.3,-27.6,-27.4,-27.5,-28.1,
    -27.3,-27.8,-26.7,-27.3,-28.3,-26.2,-26.3,-27.4,-26.1,-26.7,
    -25.8,-25.8,-25.7,-25.9,-26.1,-24.4,-25.4,-25.6,-25.7,-25.6,
    -26.8,-24.6,-26.4,-26.1,-26.9,-26,-26,-25.9,-26.5,-25.8,
    -27.2,-25.9,-26.6,-27.1,-26,-26.3,-27.5,-26.4,-27.3,-26.4,
    -25.8,-26.8,-26.6,-25.9,-26.6,-26.4,-26.1,-26.9,-27.3),
  c(12.5,13.3,12.9,12.8,12.8,13.3,13.7,13,13.3,12.5,12.7,12.7,
```


Overview with raw isotope values



Thanks to the overview we saw that one species displayed only one individual (the black dot on the chart). In a first step, we excluded this species to calculate the standard ellipses.

```
#nb of individuals per species  
table(exo$group)  
  
##  
## 1 2 3 4  
## 20 20 18 1  
  
#we selected only the species with at least 3 individuals
```

```

MTT <- exo[exo$group %in% which(table(exo$group)>2),]
str(MTT, vec.len=2)

## 'data.frame': 58 obs. of 4 variables:
## $ iso1      : num -27.3 -27.8 -27.2 -28.3 -27.5 ...
## $ iso2      : num 12.5 13.3 12.9 12.8 12.8 ...
## $ group     : num 1 1 1 1 1 ...
## $ community: num 1 1 1 1 1 ...

```

Then, we uploaded the package 'SIBER' and defined all required parameters. See SIBER documentation for any details.

```

set.seed(1404)
library(SIBER)
#library(help="SIBER")
# options for running jags
parms <- list()
parms$n.iter <- 2 * 10^4 # number of iterations to run the model for
parms$n.burnin <- 1 * 10^3 # discard the first set of values
parms$n.thin <- 10 # thin the posterior by this many
parms$n.chains <- 2 # run this many chains
# define the priors
priors <- list()
priors$R <- 1 * diag(2)
priors$k <- 2
priors$tau.mu <- 1.0E-3
community.hulls.args <- list(col = 1, lty = 1, lwd = 1)
group.ellipses.args <- list(n = 100, p.interval = NULL, lty = 1, lwd = 2)
group.hull.args <- list(lty = 2, col = "grey20")

```

Then, we created a SIBER object from our data, and ran the 'siberMVN' function to simulate 4000 standard ellipses for each species with more than 3 individuals. The function returned a new R object called 'test.posterior'.

```

#creation of a SIBER object with adhoc format
test <- createSiberObject(MTT)
#running of the SIBERMVN function
test.posterior <- siberMVN(test, parms, priors)

```

test.posterior is a list of 3 matrices (one for each group of each community) of 4000 rows and 6 columns that gives the covariance matrix (columns 1 to 4) and the mean values of iso1 and 2 (column 5 and 6) for each simulation.

```

#structure of test.posterior
str(test.posterior, vec.len = 2)

## List of 3
## $ 1.1: num [1:4000, 1:6] 0.433 0.484 ...
## ..- attr(*, "dimnames")=List of 2
## .. ..$ : NULL
## .. ..$ : chr [1:6] "Sigma2[1,1]" "Sigma2[2,1]" ...
## $ 1.2: num [1:4000, 1:6] 0.462 0.349 ...
## ..- attr(*, "dimnames")=List of 2
## .. ..$ : NULL
## .. ..$ : chr [1:6] "Sigma2[1,1]" "Sigma2[2,1]" ...
## $ 1.3: num [1:4000, 1:6] 0.316 0.2 ...
## ..- attr(*, "dimnames")=List of 2
## .. ..$ : NULL
## .. ..$ : chr [1:6] "Sigma2[1,1]" "Sigma2[2,1]" ...

#head of each matrix
head(round(test.posterior[[1]], digits=2))

##      Sigma2[1,1] Sigma2[2,1] Sigma2[1,2] Sigma2[2,2] mu[1] mu[2]
## [1,]      0.43      -0.01      -0.01      0.18 -27.42 12.55
## [2,]      0.48      -0.08      -0.08      0.18 -26.97 12.72
## [3,]      0.35      -0.03      -0.03      0.23 -27.35 12.84
## [4,]      0.47       0.00       0.00      0.20 -26.89 12.65
## [5,]      0.37      -0.09      -0.09      0.24 -27.49 12.94
## [6,]      0.44      -0.15      -0.15      0.27 -27.47 12.78

```

Following Jackson *et al.* (2011), we fixed the 'steps' parameter at 5 to evaluate each ellipse. At this precision level, each ellipse was estimated by a polygon counting 72 points.

```

#ellipse estimation parameter
steps = 5

```

We also created the 'recap' matrix to collect the values of the isotopic metrics for each of the 4000 simulations.

```

#creation of the "recap" matrix
recap <- matrix(0, 4000, 3)
colnames(recap) <- c("ISA", "CR", "NR")
recap <- as.data.frame(recap)

```

The community representation was obtained by a 2-step way. First, we estimated the ellipses of each group, and then we added the point isotope signals of species with

maximally 2 individuals. Based on this representation, we calculated the three isotopic metrics.

```

#NB: we loaded the PBSmapping library beforehand, to deal with
#polygons
system.time(
  {
#we calculated the metrics for each simulation using a "for loop"
  for(i in c(1:4000))
  {
#####
#
##
# #
# #
#####
#We created a matrix to collect the polygons estimating the ellipses
#of each group
    tak <- matrix(0, 0, 4)
#Then, we estimated the ellipse of each group k using another "for loop"
    for(k in names(test.posterior))
    {
#ellipse estimation with a polygon
#1-coordinates' calculation of 72 points equally distributed on the
#ellipse edge
      tempo <- test.posterior[[k]]
      mx <- tempo[i,"mu[1]"]
      my <- tempo[i,"mu[2]"]
      CM <- tempo[i,1:4]
      dim(CM) <- c(2,2)
      eig <- eigen(CM)
      a <- sqrt(eig$values[1])
      b <- sqrt(eig$values[2])
      theta <- sign(CM[1, 2]) * asin(abs(eig$vectors[2, 1]))
      psi <- seq(0, 2 * pi, steps * pi/180)
      xtmp <- mx + a * cos(theta) * cos(psi) - b * sin(theta) *
        sin(psi)
      ytmp <- my + a * sin(theta) * cos(psi) + b * cos(theta) *
        sin(psi)
#2-creation of the polygon encompassing the 72 points of the ellipse
#edge using the chull function
      mychull <- chull(xtmp, ytmp)
      X <- xtmp[mychull]
    }
  }
)

```

```

Y <- ytmp[mychull]
lx <- length(X)
PID <- c(rep(match(k, names(test.posterior)), lx))
POS <- c(1:lx)
lgr <- cbind(PID, POS, X, Y)
#3-addition of the new polygon in the tak matrix
tak <- rbind(tak, lgr)
}

#####
##
# #
#
### #
#####
#addition of raw isotope signals for the species with maximally 2
#individuals.
lgr <- exo[exo$group %in% which(table(exo$group)<3), c("iso1", "iso2")]
names(lgr) <- c("X", "Y")
tak2 <- rbind(tak[,3:4], lgr)

#####

#Metric calculation

#####
#creation of the convex hull encompassing the whole community represen-
#tation (ellipses + point isotope signals)
mychull <- chull(tak2)
X <- tak2[mychull,"X"]
Y <- tak2[mychull,"Y"]
lx <- length(X)
PID <- rep(1, lx)
POS <- c(1:lx)
lgr <- cbind(PID, POS, X, Y)
ISA <- as.data.frame(lgr)
#creation of a "PolySet" Object in order to use the "calcArea" function
ISA <- as.PolySet(ISA)

#calculation of the metrics:
#1-ISA, as the area of the convex hull
recap$ISA[i] <- calcArea(ISA)$area

```

```

#2-CRadj, as the range of the d13C values
  recap$CR[i] <- diff(range(ISA$X))
#3-NRadj, as the range of the d15N values
  recap$NR[i] <- diff(range(ISA$Y))
}
}
#duration of the calculation:
)

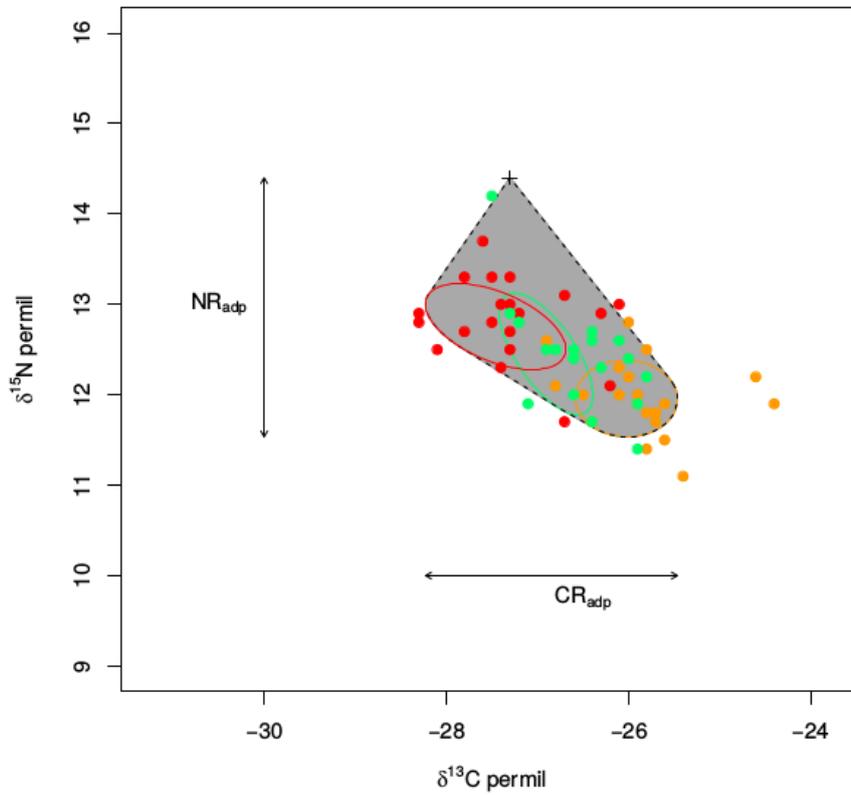
##      user  system elapsed
##  17.44    0.06   17.50

#head of the recap matrix:
head(recap)

##      ISA      CR      NR
## 1 3.579452 2.710059 2.485654
## 2 3.221068 2.318770 2.921962
## 3 3.810280 2.810427 3.073918
## 4 3.882366 2.768565 2.954445
## 5 4.656592 3.365233 2.907870
## 6 4.463461 3.082048 2.828815

```

Community representation and metric calculation



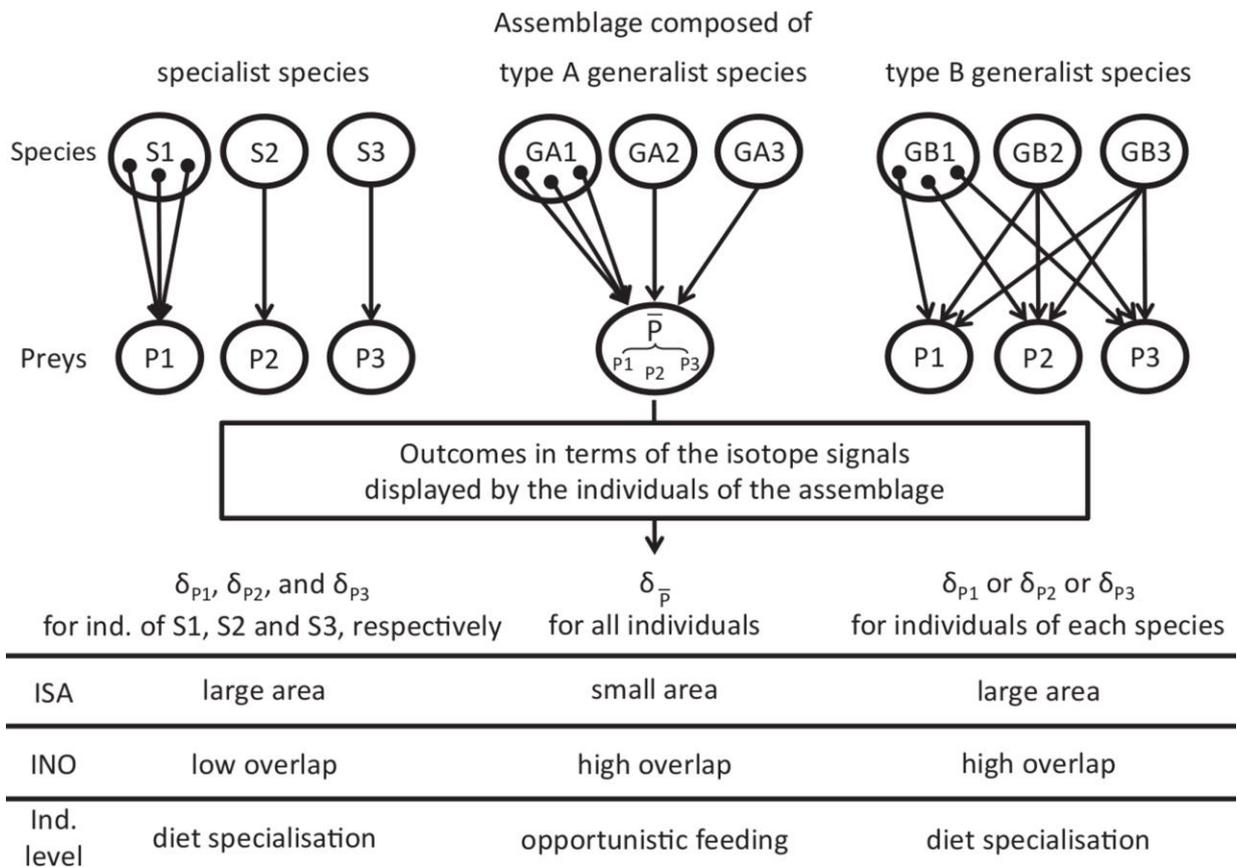
To illustrate the calculation we plotted the 2015th community representation (out of the 4000 ones) along with the raw isotope signals (coloured dots and black cross). The 3 species displaying at least 3 individuals were described with 3 ellipses (red, green and orange) and the species displaying only 1 individual was described with the point isotope signal of the individual (black cross). ISA was equal to the area of the convex hull encompassing the community representation (area in grey). It gave a measurement of trophic diversity. CR_{adp} and NR_{adp} were equal to the length of each black arrow on the figure, and represented the diversity of exploited resources and the trophic level richness, respectively.

References

- Jackson A, Inger R, Parnell A, Bearhop S (2011) Comparing isotopic niche widths among and within communities : Siber - stable isotope bayesian ellipses in r. *Journal of Animal Ecology* 80 :595–602, doi :10.1111/j.1365-2656.2011.01806.x.
- Layman C, Arrington D, Montaña C, Post D (2007) Can stable isotope ratios provide for community-wide measures of trophic structure? *Ecology* 88 :42–48, doi :10.1890/0012-9658(2007)88[42 :CSIRPF]2.0.CO ;2.

Annexe 3 : Cadre conceptuel permettant de déterminer la stratégie trophique prédominante dans une communauté

Extrait de l'article *Stable isotopes reveal food web modifications along the upstream–downstream gradient of a temperate stream* publié en 2016 dans la revue *Aquatic Sciences* (78:255-265, DOI 10.1007/s00027-015-0421-8).



© Nicolas Hette-Tronquart

Figure 1: Stratégies alimentaires possibles au sein d'une communauté et réponses attendues des métriques isotopiques (aire de l'espace isotopique et chevauchement moyen des espaces spécifiques, abrégés ISA et INO respectivement). Les points noirs représentent les individus au sein d'une espèce. (1) Si la communauté est composée d'espèces spécialistes, les individus d'une espèce donnée seront spécialisés sur la même gamme de ressources (e.g. P 1) ayant le même signal isotopique (e.g. δ_{P1}), mais les individus issus d'espèces différentes consommeront des ressources différentes possédant des signaux isotopiques différents (δ_{P1} , δ_{P2} , or δ_{P3}). Ainsi, la communauté aura une grande aire d'espace isotopique mais un faible chevauchement. (2) Dans le cas où la communauté est composée de généraliste de type A, tous les individus consomment la même gamme de ressources très diversifiée (P) et par conséquent ils ont tous le même signal isotopique ($\delta_{\bar{P}}$). Ce type de communauté occupe donc un petit espace isotopique, mais le chevauchement entre espèces est très fort. (3) Dans le dernier cas, la communauté est principalement composée d'espèces généralistes de type B. Cela signifie que les individus de la même espèce sont spécialisés sur des ressources différentes (e.g. P 1, P 2, or P 3) et ont des signaux isotopiques différents (δ_{P1} , δ_{P2} , or δ_{P3}), mais que des individus issus d'espèces différentes peuvent consommer les mêmes ressources (e.g. P 1) et donc avoir le même signal isotopique (e.g. δ_{P1}). Dans ce cas, l'espace isotopique occupé par la communauté est grand et le chevauchement entre espèces est élevé.

12. Remerciements

Les auteurs du rapport remercient toutes les personnes ayant contribué à la réalisation de ce travail. En particulier ils remercient Kévin Piorkowski, Estelle Dallaserra et Mathieu Girondin pour leur participation à l'échantillonnage des sources de matière organique et des macro-invertébrés, ainsi que pour leur travail de préparation des échantillons, en vue de leur analyse avec le spectromètre de masse à ratio isotopique. Ils remercient également tous les correspondants de l'AFB qui ont permis de transmettre l'information et d'organiser les prélèvements du compartiment piscicole, ainsi que tous les agents qui ont réalisé cet échantillonnage. Enfin ils remercient toutes les personnes qu'ils ont pu rencontrer lors de leur passage dans les délégations interrégionales, pour leur accueil et les échanges qu'ils ont eus avec elles.

Irstea

1, rue Pierre-Gilles de Gennes
CS 10030
92761 Antony Cedex

01 40 96 61 21

www.irstea.fr

Agence Française pour la Biodiversité

Hall C – Le Nadar
5, square Félix Nadar
94300 Vincennes

01 45 14 36 00

www.afbiodiversite.fr