



HAL
open science

Organisation trophique des peuplements piscicoles des cours d'eau, approche par l'analyse des isotopes stables

Nicolas Hette-Tronquart

► To cite this version:

Nicolas Hette-Tronquart. Organisation trophique des peuplements piscicoles des cours d'eau, approche par l'analyse des isotopes stables. Sciences de l'environnement. Doctorat du Muséum national d'histoire naturelle, Spécialité: Écologie aquatique, 2012. Français. NNT: . tel-02598296

HAL Id: tel-02598296

<https://hal.inrae.fr/tel-02598296v1>

Submitted on 15 May 2020

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.

MUSEUM NATIONAL



D'HISTOIRE NATURELLE

Ecole Doctorale Sciences de la Nature et de l'Homme – ED 227

THESE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DU MUSEUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE

Spécialité : Écologie aquatique

Présentée et soutenue publiquement par

Nicolas Hette Tronquart

le 22 Octobre 2012

Organisation trophique des peuplements piscicoles des cours d'eau, approche par l'analyse des isotopes stables

Sous la direction de : Messieurs Jérôme Belliard et Thierry Oberdorff

JURY :

M. Tarik Meziane	Maître de conférences, Muséum national d'histoire naturelle (075)	Président
Mme Josette Garnier	Directrice de Recherche, CNRS-Université Pierre et Marie Curie (075)	Rapporteur
M. Régis Céréghino	Professeur, Université Paul Sabatier (031)	Rapporteur
M. Pascal Riera	Maître de conférences, Station biologique de Roscoff (029)	Examineur
M. Jérôme Belliard	Ingénieur de Recherche, IRSTEA, Antony (092)	Directeur de thèse
M. Thierry Oberdorff	Directeur de Recherche, IRD-Muséum national d'histoire naturelle, Paris (075)	Directeur de thèse



Organisation trophique des peuplements piscicoles des
cours d'eau : approche par l'analyse des isotopes
stables

Nicolas Hette Tronquart

Remerciements

Je tiens à exprimer, en premier lieu, mes remerciements aux membres du jury qui ont pris le temps d'évaluer mon travail, et tout particulièrement à Josette Garnier et à Régis Céréghino, rapporteurs de ce travail.

Merci à Bernard Dumont, Gérard Lacroix, Laurent Mazéas, Jean-Marc Roussel, membres du comité de thèse, pour leur soutien et leurs apports scientifiques.

Merci à Jean-Marie Mouchel, directeur du programme PIREN-Seine (Programme interdisciplinaire de Recherche en Environnement sur la Seine), pour le soutien financier accordé à cette étude.

Merci à Michel Hénin, directeur du département SIGR de l'Institut d'aménagement et d'urbanisme de la région d'Île-de-France, pour avoir mis à ma disposition l'occupation des sols en 48 postes.

Je tiens également à remercier Christophe Blanchard et les équipes de l'Onema (Office national de l'eau et des milieux aquatiques) pour leur aide sur le terrain, notamment pour le prélèvement additionnel de 45 poissons du bassin versant de la Seine.

J'exprime mes remerciements à Adrien Rey, technicien du Parc naturel régional de la Haute-Vallée-de-Chevreuse, pour m'avoir fait partager sa connaissance des cours d'eau lors du choix de mes sites d'étude et pour son aide précieuse durant les campagnes de terrain.

Merci à Didier Pont et à l'équipe "écosystèmes d'eaux courantes" d'Irstea Aix-en-Provence, pour la mise à disposition du jeu de données isotopiques sur le bassin versant du Bez, et pour nos échanges à ce sujet (jeu de données obtenu dans le cadre du projet APR "Biodiversité et changement climatique" 2005, financé par le Ministère de l'écologie et du développement durable MEDDAD).

Merci à l'ensemble de l'unité de recherche Hydrosystèmes et Bioprocédés d'Irstea Antony, pour son accueil et sa bonne humeur. Merci en particulier à Jonathan Epissard et

Angéline Guenne de l'équipe chimie, pour leur savoir-faire, leur expérience et leur soutien lors des analyses isotopiques, et merci à Julien Peschard, pour la réalisation des cartes.

Un grand merci à l'équipe « hydroécologie fluviale » d'Irstea Antony qui a mis à ma disposition ses moyens techniques et m'a procuré un encadrement de qualité dans une ambiance chaleureuse de travail et d'entraide. Un grand merci spécifiquement à Amandine Zahm, pour son aide lors des campagnes de terrain et pour sa très grande patience lors des pesées, sans lesquelles ce travail n'aurait pas pu aboutir. Merci également à Evelyne Tales qui a facilité les campagnes de terrain par sa remarquable efficacité et qui m'a patiemment transmis sa passion et sa connaissance du milieu aquatique. Merci à Olivier Delaigue pour son aide précieuse concernant les statistiques, R et L^AT_EX, mais également pour nos séances de Dobble avec Sarah Beslagic.

Merci à Coralie Victoire et Liana Reully, dont j'ai encadré les stages, pour leur sérieux et leur application lors de la phase de préparation des échantillons.

Merci à tous les relecteurs de ce manuscrit.

Mes plus profonds remerciements vont à mes directeurs de thèse Jérôme Belliard et Thierry Oberdorff ; merci pour leur confiance malgré ma formation atypique ; merci d'avoir toujours été disponibles ; merci d'avoir su créer une atmosphère de travail amicale qui m'a permis de discuter avec eux en toute franchise, sans appréhension. Merci pour toutes les connaissances que vous m'avez transmises et merci pour votre haut niveau d'exigence scientifique, indispensable à la conduite de recherche. J'espère que nous aurons à nouveau l'opportunité de travailler ensemble.

Enfin, mes pensées vont à toute ma famille.

Avant-propos

Les résultats et réflexions présentés dans ce manuscrit sont fondés sur l'observation de systèmes naturels. Leur échantillonnage sur le terrain a donc constitué une part importante de l'activité réalisée au cours de cette thèse. À cela s'ajoutent aussi la préparation des échantillons ainsi que les analyses isotopiques (sans compter les opérations de maintenance et les phases de test). Si j'ai été très largement assisté lors de la phase de préparation des échantillons, en revanche, j'ai réalisé l'ensemble des analyses isotopiques. Pour cela, j'ai participé, en juin 2009, à la formation « Operator training » dispensée par le fabricant du spectromètre de masse dont dispose l'unité de recherche HBAN. J'ai ensuite commencé à manipuler l'équipement en décembre 2009, sous la supervision de Jonathan Epissard¹, qui m'a patiemment transmis tout le savoir-faire et l'expérience nécessaires pour pouvoir réaliser moi-même les analyses isotopiques de mes échantillons. Une panne du spectromètre de masse, qui a duré plus de trois mois et a conduit *in fine* le fabricant à remplacer l'ancien spectromètre par un équipement neuf, a retardé substantiellement le début des analyses. La charge de travail de terrain et de laboratoire, visiblement sous-évaluée au début de la thèse, puis la panne du spectromètre de masse, m'ont conduit à adapter le sujet de thèse par rapport à celui envisagé initialement. En particulier, avec mes directeurs de thèse, nous avons décidé (1) d'inclure la question de l'influence de la variabilité thermique sur le réseau trophique (non prévue à l'origine), et (2) de ne pas présenter l'étude sur les variations saisonnières du fonctionnement trophique, dont les résultats isotopiques n'ont été disponibles que trop tardivement (début 2012), pour disposer de suffisamment de recul dans les interprétations. L'influence de la variabilité thermique étant testée grâce à un jeu de données existant, le point (1) a permis de mettre en pratique dès l'automne 2009 les outils analytiques couramment utilisés dans la littérature pour l'étude des réseaux trophiques par l'approche des isotopes stables, alors que je ne disposais pas encore des analyses isotopiques de mes campagnes de terrain.

1. Technicien de recherche, chargé des analyses isotopiques au sein de l'unité jusqu'à l'été 2010.

Sommaire

Avant-propos	7
Table des figures	11
Liste des tableaux	13
Introduction générale	17
I Méthodologie	41
1 Analyses isotopiques	43
2 Isotopes stables et réseau trophique	57
3 Stratégie d'échantillonnage	73
II Déterminants du réseau trophique aquatique	81
4 Répercussions du gradient longitudinal	83
5 Effet de la variabilité thermique	93
6 Influence de l'occupation des sols	99

Synthèse générale et perspectives	115
Bibliographie	131
Annexes	147
A Article 1 : Fish fins as non-lethal surrogates for muscle tissues in freshwater food web studies using stable isotopes	149
B Article 2 : Effects of the longitudinal gradient on the size of fish assemblage trophic niche in temperate streams	151
C Article 3 : Food chain length and temperature variability : insights from temperate streams	189
D Utilisation de l'analyseur élémentaire	229
E Utilisation du spectromètre de masse	231
F Abréviation des noms d'espèces de poissons	233

Table des figures

0.1	Un des premiers réseaux trophiques	20
0.2	Les deux voies énergétiques	23
0.3	Limites d'un écosystème	28
0.4	River Continuum Concept	30
0.5	Réseau trophique d'une rivière	31
0.6	Variation des ratios isotopiques	33
0.7	Principe du fractionnement isotopique	34
0.8	Application des isotopes stables	35
1.1	EA-IRMS	44
1.2	Simple four	47
1.3	Action du spectromètre	48
1.4	Un chromatogramme	54
2.1	Biplot $\delta^{13}\text{C} - \delta^{15}\text{N}$	58
2.2	Relation Muscle-Nageoire	60
2.3	Calculs de FCL	63
2.4	Calculs de métriques	65
2.5	Métrique de chevauchement des niches trophiques	66
2.6	Mécanismes expliquant l'augmentation de niche trophique	67
2.7	Signaux isotopiques et régimes alimentaires issus de la bibliographie	69
2.8	FCL observées et données bibliographiques	70
3.1	Échelle régionale et locale	75
3.2	Choix des sites 2009	76
4.1	Guildes trophiques et gradient longitudinal	85
4.2	Biomasse et richesse spécifique	85
4.3	Aire de la niche trophique et gradient	86
4.4	Path analysis	87
4.5	Richesse spécifique et disponibilité des ressources	88
4.6	Chevauchement de niche et richesse spécifique	90
5.1	Régime thermique	94
5.2	FCL et température	95
5.3	Structure des réseaux trophiques	97

6.1	Positions des sites et occupation des sols	101
6.2	Échelle régionale et locale	102
6.3	Influence des zones forestières à l'échelle régionale	107
6.4	Influence des zones urbaines à l'échelle locale	108
6.5	Influence des zones agricoles à l'échelle locale	109

Liste des tableaux

0.1	Abondance	32
1.1	Masses molaires du CO ₂ et du N ₂	44
3.1	Échantillonnage des macroinvertébrés	77
6.1	Variables et métriques employées	104
D.1	Configuration de l'EA	229
D.2	Maintenance de l'EA	230
E.1	Conditionnement	231
E.2	Analyses de routine	231
E.3	Corrections	232
F.1	Abréviation	233

À Pierre de Rosette

Introduction générale

Every animal is closely linked with a number of other animals living round it, and these relations [...] are largely food relations.

C. Elton, 1927

Pour comprendre le fonctionnement des écosystèmes, les relations trophiques sont incontournables. Étudiant spécifiquement les communautés animales, Elton (1927) déclare que l'occupation principale des animaux consiste à se nourrir. Trouver la nourriture adéquate en quantité suffisante détermine selon lui, la structure et les activités de la communauté animale. D'ailleurs, les relations alimentaires constituent une grande partie des interactions entre êtres vivants.

Barbault (2008) distingue quatre grands types d'interactions entre êtres vivants (compétition, mangeur-mangé, hôte-parasite, coopération), selon les bénéfices (positifs, neutres ou négatifs) qu'en tirent les individus concernés. Par définition, la compétition entre organismes ou populations porte sur des ressources qui peuvent être de nature spatiale (sites de ponte ou de nidification, abris), reproductive (partenaires sexuels) ou trophique (eau, aliments). Les interactions mangeur-mangé et hôte-parasite sont des relations alimentaires, l'action des parasites se distinguant par le fait qu'elle ne concerne qu'une seule proie dont la mort n'est pas immédiate, mais dont la probabilité de survie est de ce fait amoindrie. Enfin, la coopération concerne les interactions qui sont positives soit pour les deux espèces, soit pour l'une d'entre elles, l'autre ne souffrant pas. Si les interactions mangeur-mangé et hôte-parasite sont clairement des relations trophiques, nombre d'interactions de compétition ou de coopération sont donc sous-tendues par des relations alimentaires. Ainsi, c'est initialement la consommation de la ressource trophique par l'un des concurrents, diminuant la disponibilité de la ressource, qui induit une interaction de compétition avec l'autre concurrent. De même, dans le cas du mutualisme entre les oiseaux piqueboeufs et certains grands herbivores, c'est bien l'intérêt alimentaire qui pousse les oiseaux à débarrasser les hôtes de leurs parasites. Selon cette analyse coût-bénéfice des interactions, la majorité des interactions entre êtres vivants est donc de nature alimentaire.

Du point de vue énergétique, on distingue deux types d'interactions entre êtres vivants. D'une part, il existe des interactions assurant un transfert, une transformation ou un stockage de la matière ou de l'énergie au sein de l'écosystème : ce sont les relations alimentaires. Parmi elles, Barbault (1983) distingue la prédation, le broutage et le parasitisme. D'autre part, le reste des relations entre êtres vivants ne fait pas intervenir l'énergie, mais affecte principalement la dynamique des populations. Ce sont essentiellement la compétition et la coopération, même si ces deux types d'interaction peuvent également être liés à des relations alimentaires, comme nous l'avons vu précédemment.

En définitive, que l'on adopte le premier point de vue (l'analyse coût-bénéfice des interactions) ou le second (l'approche énergétique), les relations alimentaires sont omniprésentes. Leur étude permet donc d'appréhender une part non négligeable du fonctionnement des écosystèmes. Cette approche fonctionnelle des écosystèmes est fondamentale, car elle permet d'unifier et de simplifier la lecture de l'infinie variété structurelle des écosystèmes en en dégagant des ensembles cohérents d'écosystèmes ayant le même fonctionnement, ici trophique. *In fine*, cette approche met en évidence de nouvelles propriétés, invisibles au niveau structurel, qui aident à comprendre la réponse des écosystèmes aux facteurs environnementaux (climat, anthropisation,...).

Qu'est-ce-qu'un réseau trophique ?

Étymologiquement, le mot « trophique » vient du grec *trophê*, qui signifie « nourriture ». Par définition, une relation trophique constitue le lien unissant un prédateur et sa proie dans un écosystème. Prédateur et proie sont ici pris au sens large puisque le parasite est considéré comme le prédateur de son hôte et que les végétaux peuvent être les proies des herbivores. Étudier l'organisation trophique d'un écosystème, c'est donc étudier les relations alimentaires entre les différents organismes de cet écosystème. Pour chaque organisme, on cherche à savoir ce qu'il mange et par qui il est mangé.

Selon Elton (1927), la taille de l'organisme joue un rôle déterminant dans la réponse à ces questions. En effet, un animal ne pourra pas attraper ou tuer d'autres animaux au-dessus d'une certaine taille, car il n'aura pas assez de force ou d'adresse pour le faire. De plus, morphologiquement, la taille de sa bouche peut l'empêcher de consommer des animaux trop grands (Arim *et al.*, 2010). Inversement, en-dessous d'une certaine taille de nourriture, il peut lui devenir impossible d'attraper suffisamment de proies pour couvrir ses besoins. Il existe donc un optimum de taille pour chaque organisme : en général, un animal est plus grand que ses proies, et plus petit que ses prédateurs. Il existe bien sûr des exceptions à ce principe général, en particulier chez les herbivores, mais également chez certains prédateurs, à l'instar des loups qui unissent leurs forces en formant des meutes, pour attaquer des proies plus grandes (Delaigne, 2006).

Cette notion d'optimum de taille montre qu'un être vivant ne se nourrit que d'un nombre limité d'autres êtres vivants, correspondant à ses besoins². L'ensemble de ces êtres vivants consommés par un animal constitue son *régime alimentaire*. Généralement, on distingue *régime alimentaire réel*, qui correspond aux proies réellement ingérées à un moment donné dans des conditions données, et *régime alimentaire potentiel*, non réalisé dans les conditions étudiées, mais qui permet des adaptations à d'autres milieux. Il faut également noter que des régimes alimentaires structurellement différents peuvent être fonctionnellement très similaires, car des proies différentes peuvent jouer le même rôle alimentaire. C'est le phénomène d'équivalence ou de redondance trophique (Woodward, 2009).

Le régime alimentaire d'un être vivant renseigne donc sur les relations trophiques qu'il entretient, au niveau individuel, avec les autres êtres vivants de l'écosystème. Au niveau spécifique, l'étude des régimes alimentaires de plusieurs individus d'une même espèce permet de décrire ses relations trophiques avec les autres espèces de l'écosystème. L'ensemble des relations trophiques de toutes les espèces constitue alors le *réseau trophique* et l'étude des régimes alimentaires permet de positionner les espèces les unes par rapport aux autres dans ce réseau. Ces positions sont appelées *positions trophiques*. Un des premiers réseaux trophiques étudiés est celui décrivant les régimes alimentaires du hareng à différents stades de développement (figure 0.1). On voit qu'on est loin de la représentation linéaire, naïve, couramment répandue. On peut également noter l'influence de la taille qui modifie le régime alimentaire du hareng lors de son développement. Enfin, on remarque que le phytoplancton se positionne à la base du réseau trophique, et que le zooplancton occupe une position intermédiaire, entre le phytoplancton et le hareng qui se situe au sommet de l'édifice trophique. Cela correspond à la structure classique d'un réseau trophique. Le plus souvent, on trouve à la base du réseau les sources de matière organique vivante (comme le phytoplancton dans l'exemple de la figure 0.1) ou en décomposition (par exemple des animaux morts). Viennent ensuite les consommateurs de la matière organique, puis les consommateurs des consommateurs, et ainsi de suite jusqu'aux super-prédateurs, c'est-à-dire les animaux n'ayant pas de prédateur. Le nombre d'intermédiaires entre un animal et les sources de matière organique est appelé *niveau trophique*. Par exemple, un consommateur de consommateur de matière organique est au troisième niveau trophique, la matière organique constituant le premier niveau. Comme souligné précédemment, la réalité est loin d'être linéaire et la distinction en niveaux trophiques discrets et entiers n'est pas représentative du fonctionnement d'un écosystème. Souvent, les animaux se nourrissent sur plusieurs niveaux trophiques (polyphagie) ou sont omnivores, c'est-à-dire qu'ils sont aptes à consommer des végétaux et des proies animales. Les niveaux trophiques observés résultent alors des proportions de chaque niveau trophique ingéré et ne sont donc pas entiers. Il n'empêche que le niveau trophique d'une espèce est une caractéristique très pratique, car c'est une variable universelle, dont la valeur a la même signification quel que soit l'écosystème étudié et renseigne sur son régime ali-

2. Les besoins d'un individu dépendent largement de son appartenance à une espèce donnée et sont donc déterminés génétiquement.

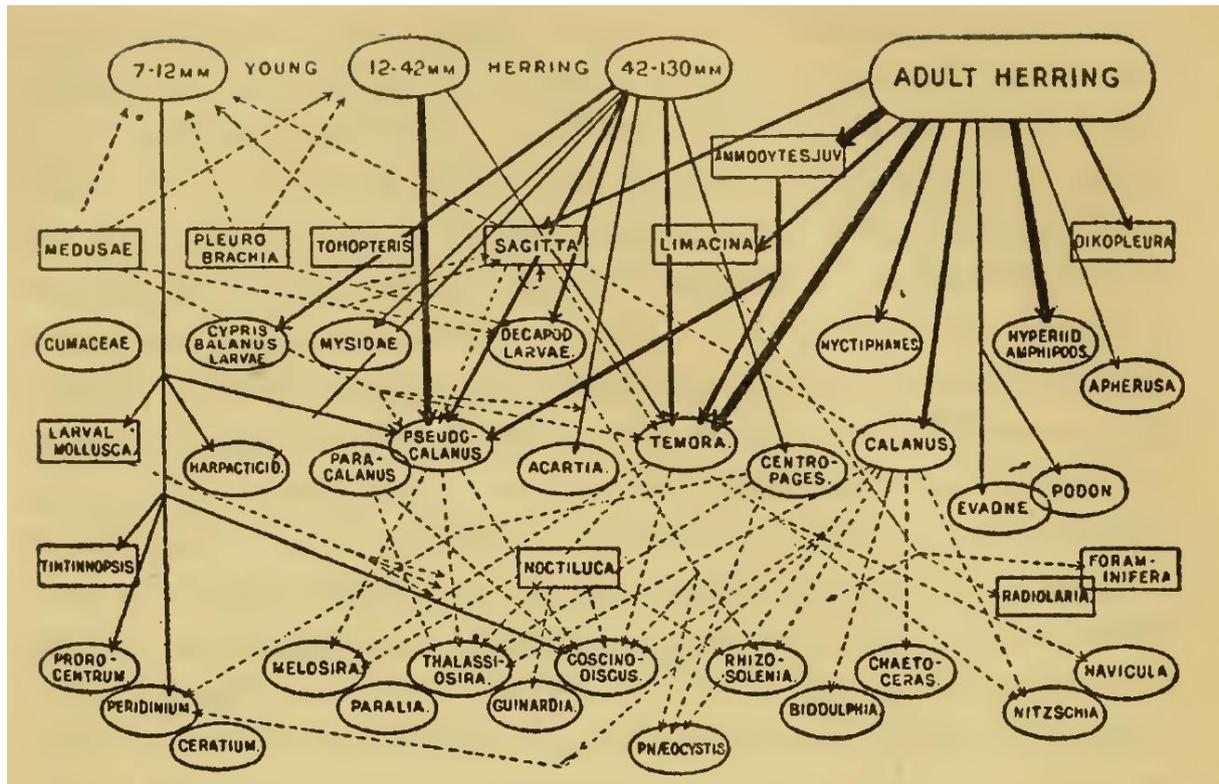


FIGURE 0.1 – Exemple de réseau trophique : le régime alimentaire du hareng dans la Mer du Nord. (d'après Hardy, 1924).

mentaire : plus le niveau trophique est élevé, plus l'espèce a tendance à être carnivore, et inversement plus le niveau trophique est faible, plus l'espèce se rapproche d'un régime alimentaire d'herbivore strict.

L'ensemble des relations trophiques existant entre les espèces d'une biocénose constitue donc le réseau trophique de l'écosystème. En outre, la position d'une espèce dans ce réseau reflète son niveau trophique (position sur un gradient herbivore – super-prédateur) et sa dépendance aux différentes sources de matière organique. Par ailleurs, la variabilité des régimes alimentaires au sein d'une espèce (un régime alimentaire par individu) d'une part, ainsi que la plasticité alimentaire de chacun des individus d'autre part, impliquent qu'une espèce occupe, en réalité, tout un espace trophique autour de sa position trophique moyenne. Cet espace trophique, couvrant une partie de l'échelle des niveaux trophiques et une partie des sources de matière organique, constitue la *niche trophique*. Elle correspond au concept de niche décrit par Elton (1927) et ne constitue qu'une partie de l'hypervolume à n dimensions de la niche écologique définie par Hutchinson (1957). L'intérêt de la niche trophique est de quantifier la variabilité des comportements trophiques des espèces (en mesurant, par exemple, son aire). Le concept de niche permet

également de comparer des espèces entre elles : de savoir si elles sont équivalentes du point de vue fonctionnel (redondance trophique, chevauchement des niches), ou au contraire si le *principe d'exclusion compétitive* de Gause (1934) est respecté (ségrégation des niches). La réduction de la taille de la niche rend aussi compte de la spécialisation d'une espèce. Inversement, une large niche trophique traduit un comportement généraliste. Dès lors, on peut généraliser ce concept à l'écosystème (Roughgarden, 1972 ; Layman *et al.*, 2007a). La niche trophique occupée par l'écosystème représente alors l'espace trophique occupé par l'ensemble des espèces (l'espèce joue pour l'écosystème le rôle que joue l'individu pour l'espèce). La niche trophique donne ainsi une quantification de la réponse trophique de l'écosystème aux facteurs environnementaux. Une large niche traduit dans ce cas un réseau trophique complexe exploitant de nombreuses sources de matière organique ou possédant de nombreux niveaux trophiques. Avec cette définition, on comprend qu'en-dessous d'un certain seuil, la niche trophique dépend fortement du nombre d'individus étudiés. En effet, à moins d'être dans le cas d'une saturation fonctionnelle (Carey & Wahl, 2011), l'accroissement du nombre d'individus implique un élargissement de la niche trophique (Cohen & Newman, 1991). Pour avoir une bonne représentation de la niche trophique d'une espèce (ou de l'écosystème), il faut donc avoir étudié les régimes alimentaires d'un nombre suffisant d'individus (ou d'espèces pour la niche trophique d'un écosystème).

L'échantillonnage de l'écosystème joue donc un rôle primordial dans l'étude des réseaux trophiques : oublier un super-prédateur, c'est faire disparaître un niveau trophique du réseau. Cette tâche est d'autant plus ardue que les espèces des niveaux trophiques les plus élevés sont les plus rares. Comme le décrit Elton (1927) avec le concept de *pyramide des nombres*, la population des espèces décroît avec le niveau trophique. Au premier niveau trophique, les producteurs primaires ont des populations abondantes, largement supérieures à ce qui est nécessaire pour leur survie. Cette marge permet de nourrir des populations d'herbivores de plus grande taille, un peu moins abondantes, mais encore largement suffisamment nombreuses pour assurer leur survie. Cette nouvelle marge, certes plus petite, permet de nourrir des populations de carnivores de taille encore plus grande, en nombre plus réduit ; et ainsi de suite jusqu'à ce que la marge ne soit plus assez grande pour subvenir aux besoins d'une espèce de niveau trophique supérieur. Ainsi, les super-prédateurs sont souvent les espèces les plus grandes, signifiant qu'elles sont susceptibles de se déplacer sur de longue distance, et sont en nombre très limité dans l'écosystème. Pour ces deux raisons, leur échantillonnage est très difficile, tient parfois de la chance ou est simplement négligé (Steinmetz *et al.*, 2003).

Le concept de *pyramide des nombres* introduit l'idée que le nombre de niveaux trophiques est limité et que la biomasse d'un niveau donné est conditionnée par celle du niveau immédiatement inférieur³. Cette limitation a une origine énergétique et nous conduit maintenant à aborder les réseaux trophiques du point de vue de l'énergie. Jusqu'à

3. Il est couramment admis que la biomasse d'un niveau trophique donné représente environ 10 % de la biomasse du niveau inférieur (May, 1976).

présent, nous avons considéré les réseaux trophiques comme un ensemble de relations alimentaires entre espèces⁴. À la suite de l'article fondateur de Lindeman (1942), on peut également adopter une vision plus physicienne qui considère les réseaux trophiques comme l'ensemble des transferts, des transformations et des stockages d'énergie entre chaque espèce. À la base du réseau, l'énergie est présente sous forme électromagnétique (lumière) et chimique (matière inorganique comme le nitrate). Cette énergie subit alors une première transformation par les organismes autotrophes appartenant au premier niveau trophique, qui l'utilisent pour créer de la matière organique à partir de matière inorganique. L'énergie est alors disponible pour les organismes du second niveau trophique et peut ainsi se transférer au reste du réseau trophique. Étant donné le rôle prépondérant des organismes photoautotrophes, cette voie énergétique est souvent appelée, par abus de langage, *voie photosynthétique*. Il existe aussi une autre voie de transfert énergétique qui repose sur l'énergie présente dans la matière organique en décomposition provenant des animaux et végétaux morts ainsi que de leurs excréments. Ce stock d'énergie est utilisé par les organismes décomposeurs. Ils deviennent alors eux-même la proie d'autres organismes et rendent ainsi disponible l'énergie pour le niveau trophique supérieur. Ce transfert d'énergie constitue la *voie détritique*. Les deux voies ne sont bien sûr pas disjointes ; il existe des liens entre elles. Par exemple, les espèces des niveaux trophiques supérieurs peuvent tirer leur source d'énergie de ces deux voies, mais surtout la minéralisation de la matière organique en décomposition rend disponible des nutriments pour les organismes autotrophes. La figure 0.2 propose une représentation schématique d'un réseau trophique sous l'angle énergétique.

Avec l'approche énergétique, les espèces du réseau trophique acquièrent une fonction (producteur de matière organique pour les autotrophes, décomposeur, prédateur d'autotrophes = herbivore, etc.). Cette fonction est fortement liée au régime alimentaire de l'espèce et les différentes espèces exerçant une même fonction forment une *guilde trophique*. Cette classification des espèces en guildes trophiques, même si elle est réductrice, permet de simplifier le réseau trophique en réduisant son nombre de nœuds et de branches.

Dans cette approche quantitative, les nœuds du réseau correspondent à des stocks d'énergie (la plupart du temps évalués en terme de biomasse) et les branches correspondent aux flux d'énergie entre les nœuds. Il faut noter que chaque transformation d'énergie s'accompagne d'un export d'énergie sous forme calorifique (principe de dégradation de l'énergie). Cet export d'énergie, dû en partie à la respiration et à la prédation (Lindeman, 1942), implique que la quantité d'énergie stockée par un niveau trophique soit plus faible que la quantité disponible aux niveaux inférieurs. Ainsi, cette quantité d'énergie diminue à chaque niveau trophique et finit par ne plus être suffisante pour subvenir aux besoins d'une espèce d'un niveau supérieur. Pour chaque réseau trophique, il existe donc un nombre fini de niveaux trophiques, qui dépend de la quantité initiale d'énergie dont dispose le réseau et de l'efficacité avec laquelle l'énergie se transfère. L'ensemble des niveaux trophiques du

4. Il existe aussi une autre approche des réseaux trophiques basée sur la taille, complémentaire de l'approche spécifique (Jennings, 2005).

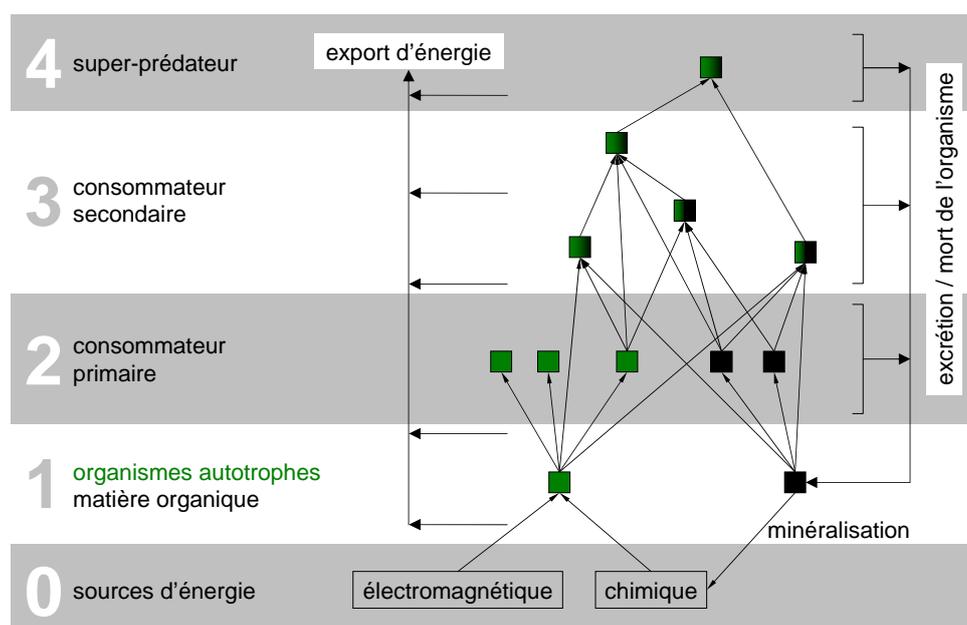


FIGURE 0.2 – Représentation d'un réseau trophique du point de vue énergétique. La voie photosynthétique est en vert, tandis que la voie détritique est en noir.

réseau (depuis les sources d'énergie jusqu'au super-prédateur) constitue la *chaîne alimentaire* de l'écosystème et le niveau trophique maximal atteint par cette chaîne est appelé *longueur de chaîne trophique* (Post, 2002a). La représentation trophique d'un écosystème par les chaînes alimentaires est une vision simplificatrice de la complexité des réseaux trophiques, mais elle résume bien leur fonctionnement, en intégrant les contrôles du réseau trophique par l'énergie entrant à sa base (processus « bottom-up ») et par la prédation venant du sommet du réseau (processus « top-down ») (Sabo *et al.*, 2009). Tout comme la niche trophique, la longueur de chaîne est donc une propriété de l'écosystème qui permet de caractériser sa réponse trophique aux facteurs environnementaux. Par exemple, elle est particulièrement sensible à la fragmentation de l'habitat (Sabo *et al.*, 2009), est corrélée à la concentration de contaminants dans les super-prédateurs (Cabana & Rasmussen, 1994) et détermine le cycle de nutriments de l'écosystème (DeAngelis *et al.*, 1989). Typiquement, les longueurs de chaîne trophique sont assez courtes et ne dépassent pas 4 à 5 niveaux trophiques (Pimm & Lawton, 1977) du fait de la limitation énergétique. Dans une étude bibliographique à l'échelle mondiale portant sur les écosystèmes aquatiques, Vander Zanden & Fetzer (2007) montrent effectivement que la longueur de chaîne trophique (calculée sans tenir compte des mammifères et des oiseaux piscivores) est égale à environ 3,5 niveaux trophiques pour les rivières et à environ 4 niveaux trophiques pour les lacs ou les écosystèmes marins.

En résumé, le concept de réseau trophique a été présenté selon deux perspectives. La première considère le réseau trophique comme l'ensemble des relations alimentaires

entre les membres du réseau : on parle alors de « connectance web ». Cette approche a servi dans cette thèse, à étudier la structure du réseau trophique (complexité du réseau, position trophique des espèces les unes par rapport aux autres). La seconde aborde les réseaux trophiques sous l'angle énergétique et est appelée « energy web ». Cette approche a permis de préciser les voies énergétiques privilégiées par l'écosystème et de quantifier les transferts d'énergie entre niveaux trophiques. Elle met donc plus l'accent sur le fonctionnement du réseau trophique. Typiquement, la longueur de chaîne trophique est une mesure du réseau trophique appartenant à l'approche énergétique, tandis que la niche trophique fait plutôt partie de l'approche par connectance. Sabo *et al.* (2009) distinguent également une autre perspective que je n'ai pas employée dans mes recherches : l'approche par interaction (« interaction web »). Dans ce cas, le réseau trophique décrit la force de l'action des consommateurs sur les ressources.

Causes immédiates et ultimes des modifications du réseau trophique

Adoptant les concepts définis précédemment, la structure et le fonctionnement d'un réseau trophique dépendent largement des espèces présentes. L'apparition d'une nouvelle espèce peut, par exemple, ajouter un niveau trophique. Post & Takimoto (2007) ont récapitulé l'ensemble des causes immédiates qui peuvent influencer la longueur de chaîne trophique ; ce sont les mêmes causes qui agissent sur l'ensemble du réseau trophique. Ils distinguent trois mécanismes : le mécanisme d'addition, le mécanisme d'insertion et le mécanisme d'omnivorie. Le premier mécanisme correspond à l'apparition ou disparition d'une nouvelle espèce super-prédatrice au sommet du réseau trophique. Cela modifie naturellement la longueur de chaîne (niveau trophique en plus ou en moins), mais peut aussi agir par cascades trophiques sur les niveaux inférieurs (effet « top-down »), et donc modifier l'organisation du réseau trophique. Le deuxième mécanisme rassemble les phénomènes d'insertion/disparition d'une espèce entre le super-prédateur et les sources de matière organique. Cela entraîne généralement une modification des positions trophiques supérieures (effet « bottom-up ») et inférieures (effet « top-down ») et change l'organisation du réseau trophique. La position trophique du super-prédateur est aussi modifiée et la longueur de chaîne augmente ou se raccourcit. Le troisième mécanisme repose sur le changement de régime alimentaire d'une ou plusieurs espèces. Ce changement correspond à une modification des contributions des différents niveaux trophiques au régime alimentaire (par exemple la part des végétaux augmente relativement à la part de proies animales). Par abus de langage, on parle de modification du degré d'omnivorie, mais ce mécanisme peut concerner tout aussi bien un animal polyphage, non-herbivore, faisant varier les proportions des différents niveaux trophiques dans son régime alimentaire. Ce changement modifie d'abord la position trophique des espèces concernées, ce qui modifie aussi indirectement, la position des espèces des niveaux trophiques supérieurs consommant ces espèces (comme le super-prédateur) et finit par modifier la longueur de chaîne trophique. Ces trois mécanismes immédiats sont à la base de toutes les modifications du

réseau trophique et peuvent agir séparément ou de manière combinée. Deux d'entre eux sont directement liés aux espèces présentes dans l'écosystème (le mécanisme d'addition et le mécanisme d'insertion). Cette classification fournit un cadre conceptuel qui réduit la multitude de façons dont la structure d'un réseau trophique peut changer à un nombre raisonnable de mécanismes. Ce faisant, elle permet d'établir des liens entre les modifications du réseau trophique et leurs causes ultimes.

Par causes ultimes, on entend les facteurs environnementaux susceptibles de modifier le réseau trophique. Cela comprend tous les facteurs influençant la composition spécifique d'un écosystème, comme le climat (Hawkins *et al.*, 2003), la taille de l'écosystème, l'énergie disponible, les événements historiques, tels que les phénomènes de colonisation ou d'extinction (Oberdorff *et al.*, 1995), l'hétérogénéité de l'habitat et des sources de matière organique ainsi que les perturbations et la stabilité de l'écosystème (Post & Takimoto, 2007). Parmi ces facteurs, trois hypothèses sont le plus souvent retenues pour expliquer les variations de la longueur de chaîne trophique : l'énergie disponible, la stabilité dynamique et la taille de l'écosystème (Sabo *et al.*, 2009).

L'hypothèse la plus ancienne est celle de la disponibilité des ressources. Déjà Elton (1927) souligne-t-il implicitement le rôle de l'énergie dans le fonctionnement des réseaux trophiques. Présentant son concept de *pyramide des nombres*, il affirme que de nombreux carnivores ont besoin d'un territoire suffisamment grand pour pouvoir subvenir à leurs besoins. Lindeman (1942) théorise cette limitation énergétique qui correspond au deuxième principe de la thermodynamique, mais c'est Hutchinson (1959) qui formule clairement cette hypothèse. Selon lui, le nombre de niveaux trophiques d'un réseau est limité par l'énergie disponible pour les niveaux trophiques supérieurs. Cette énergie dépend d'une part, de l'énergie disponible à la base du réseau trophique (Pimm, 1982), et d'autre part, de l'efficacité énergétique des transferts de matière entre chaque niveau trophique (Yodzis, 1984). En 1989, Schoener ajoute une dimension spatiale à cette hypothèse qui devient « productive-space hypothesis ». Selon ce raffinement, la quantité d'énergie disponible à la base du réseau trophique est égale à la productivité par unité d'espace multiplié par l'espace occupé par le réseau. Le plus souvent, cette hypothèse prédit une relation linéaire entre la disponibilité des ressources et la longueur de chaîne trophique (Oksanen *et al.*, 1981 ; Pimm, 1982 ; Post, 2007). Cependant, certains modèles théoriques prenant en compte la prédation intragilde⁵, prévoient une plus grande variété de relations possibles (Holt & Polis, 1997 ; Takimoto *et al.*, 2012). D'après ces derniers modèles, les causes immédiates de variation du réseau trophique, mises en jeu par la disponibilité des ressources, sont les mécanismes d'addition, d'insertion et d'omnivorie (Post & Takimoto, 2007). À faible niveau de ressource, c'est le mécanisme d'addition qui explique l'augmentation de la longueur de chaîne trophique, tandis qu'à des niveaux de ressources plus élevés, ce sont

5. La prédation intragilde est un concept introduit dans les modèles théoriques de réseau trophique pour tenir compte des comportements polyphages. Selon Holt & Polis (1997), ce concept est défini comme la prédation d'espèces par un prédateur se nourrissant également sur les mêmes ressources que ses proies.

les mécanismes d'insertion et d'omnivorie qui expliquent que la longueur de chaîne soit maximale pour un niveau de ressources intermédiaire.

La deuxième hypothèse est fondée sur le concept de stabilité dynamique de l'écosystème. Cette hypothèse trouve son origine dans le développement de modèles simples de type « Lotka-Volterra ». Avec ces modèles, Pimm & Lawton (1977) ont testé la résilience et la faisabilité d'une multitude de réseaux trophiques. Ils ont montré que les réseaux dont la chaîne trophique était la plus longue, étaient les moins résilients et les moins réalisables. Par conséquent, il est très peu probable de trouver ce type de réseaux trophiques dans des écosystèmes soumis à de fortes ou à de fréquentes perturbations. Dans ces écosystèmes, la longueur de chaîne trophique est donc supposée être plus courte. Cependant, ces modèles font intervenir des termes d'amortissement pour toutes les espèces situées à la base du réseau trophique, correspondant à un phénomène d'auto-régulation de ces espèces. Comme le soulignent Sterner *et al.* (1997), les phénomènes d'auto-régulation peuvent se produire de multiple façons dans la nature et il ne semble pas réaliste de les limiter aux seules espèces constituant la base du réseau trophique. Dans ce cas, les réseaux trophiques avec les plus longues chaînes sont les plus stables (Sterner *et al.*, 1997). On retrouve alors l'hypothèse de MacArthur (1955), qui prédit qu'un réseau trophique complexe, avec un nombre élevé de liens trophiques, accroît la stabilité de la communauté associée à ce réseau. En 2009, Sabo *et al.* constatent que cette hypothèse reste source de débat ; les rares études empiriques portant sur le sujet montrent que les perturbations de l'écosystème réduisent la complexité du réseau trophique mais ne raccourcissent pas la longueur de chaîne (Takimoto *et al.*, 2008 ; Townsend *et al.*, 1998 ; Walters & Post, 2008). Depuis, deux études ont montré l'influence négative de la variabilité de l'écosystème sur la longueur de chaîne trophique (MacHugh *et al.*, 2010 ; Sabo *et al.*, 2010). Tout comme pour l'hypothèse de la disponibilité des ressources, les trois causes immédiates (addition, insertion et omnivorie) peuvent expliquer l'influence des perturbations sur le réseau trophique (Post & Takimoto, 2007). Les plus fortes perturbations sont susceptibles de faire disparaître des espèces du réseau trophique (mécanisme d'addition ou d'insertion), tandis que les plus faibles perturbations, induisant un stress, peuvent changer les régimes alimentaires de certaines espèces (mécanisme d'omnivorie).

En plus de ces deux premières causes ultimes, une troisième hypothèse est souvent mise en avant depuis une vingtaine d'années, pour expliquer les variations du réseau trophique ; il s'agit de l'hypothèse de la taille de l'écosystème. Selon cette hypothèse, un écosystème plus grand possède un réseau trophique plus complexe avec une longueur de chaîne plus grande. Historiquement, cette hypothèse est dérivée des prédictions théoriques de Cohen & Newman (1991), ainsi que de la « productive-space hypothesis ». Constatant que le nombre d'espèces augmente avec la taille de l'écosystème, Cohen & Newman (1991) prédisent que la plus grande richesse spécifique des grands écosystèmes implique souvent la présence de prédateurs de niveaux trophiques supérieurs et conduit à un allongement de la chaîne trophique. Allant plus loin, Holt (1996) explique que la plus grande richesse spécifique des grands écosystèmes est liée à des processus de colonisation et d'extinction.

L'hétérogénéité et la disponibilité de l'habitat font également partie des hypothèses émises pour expliquer une plus grande richesse spécifique (Barbour & Brown, 1974 ; Persson *et al.*, 1992 ; Holt, 1993). Or, les écosystèmes de grande taille ont statistiquement plus de chance de posséder une grande hétérogénéité d'habitats que les petits écosystèmes. Ils sont donc susceptibles d'héberger une plus grande richesse spécifique et disposent de sources de matière organique plus hétérogènes. L'hétérogénéité de l'habitat peut également offrir plus de zones de refuge pour les proies, ce qui réduit l'efficacité de la prédation. Cela favorise la spécialisation des régimes alimentaires et augmente la longueur de chaîne trophique (Post *et al.*, 2000). Enfin, la taille de l'écosystème peut influencer le réseau trophique de manière indirecte. Comme le souligne Schoener (1989), qui fonde sa « productive space hypothesis » sur ce constat, plus un écosystème est grand, plus il aura de ressources disponibles à la base de son réseau trophique. La taille de l'écosystème a donc une influence sur le réseau trophique par le biais de la disponibilité des ressources. De même, plus un écosystème est grand, plus il amortit les perturbations (Sabo *et al.*, 2010). Dans ce cas, la taille de l'écosystème influence le réseau trophique par l'intermédiaire de la stabilité dynamique. Des études récentes ont renforcé le rôle de la taille de l'écosystème dans la détermination du réseau trophique en montrant une corrélation positive entre taille de l'écosystème et longueur de chaîne trophique pour des écosystèmes aussi variés que des lacs (Vander Zanden & Rasmussen, 1999 ; Post *et al.*, 2000), des rivières (Sabo *et al.*, 2010 ; MacHugh *et al.*, 2010) ou des îles (Takimoto *et al.*, 2008). Étudiant les causes immédiates qui expliquent cette influence, Post & Takimoto (2007) expliquent que la plus grande richesse spécifique liée aux grands écosystèmes tend à augmenter la longueur de chaîne trophique par les mécanismes d'addition et d'insertion. Cependant, ils ajoutent que la plus grande richesse spécifique peut aussi entraîner une plus grande compétition entre espèce et modifier leur degré d'omnivorie. Enfin, le mécanisme d'omnivorie peut aussi intervenir en raison de la plus grande diversité d'habitat, qui offre non seulement des ressources plus diversifiées, mais aussi des zones de refuge pour les proies.

Après environ 80 ans de recherche, le nombre d'études empiriques portant sur les déterminants des réseaux trophiques reste limité (Arim *et al.*, 2007), même s'il y a actuellement une expansion rapide de ces recherches, avec notamment l'utilisation des isotopes stables pour estimer la longueur de chaîne trophique (Takimoto & Post, 2012). Les résultats de ces recherches sont cependant contrastés, voire contradictoires, en particulier concernant l'hypothèse de stabilité dynamique. La meta-analyse de Takimoto & Post (2012) recense 13 études testant l'effet d'au moins une des trois causes ultimes sur la longueur de chaîne trophique. Ils concluent à l'influence positive de la disponibilité des ressources et de la taille de l'écosystème mais ne trouvent pas de relation significative entre le niveau de perturbations et la longueur de chaîne trophique. Cependant, parmi ces 13 études, seules 2 études (MacHugh *et al.*, 2010 ; Sabo *et al.*, 2010) considèrent simultanément les effets des trois hypothèses ; 1 seule étude porte sur un écosystème terrestre, les autres traitant d'écosystèmes dulçaquicoles.

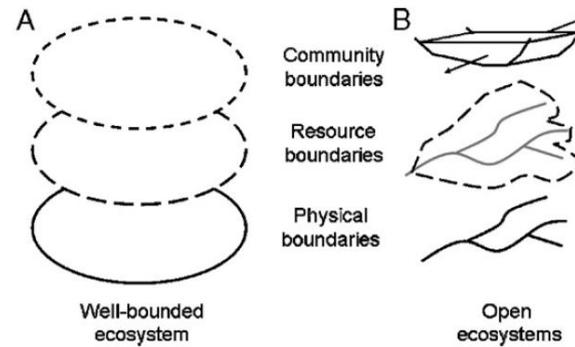


FIGURE 0.3 – Correspondance spatiale entre les limites de la communauté, les limites des ressources et les limites physiques d'un écosystème. Comparaison entre des écosystèmes bien définis (A) et des écosystèmes ouverts (B). D'après Post *et al.* (2007a).

Cas particulier des cours d'eau et implications pour les réseaux trophiques

Depuis plus d'un siècle, l'étude des écosystèmes dulçaquicoles a largement contribué au développement de l'écologie des réseaux trophiques (Thompson *et al.*, 2012). Parmi ce type d'écosystèmes, les cours d'eau offrent une large variabilité de tailles, ressources ou perturbations, au sein même d'un seul bassin versant. Les rivières sont donc des milieux idéals pour tester des hypothèses d'écologie générale (MacHugh *et al.*, 2010), comme les trois causes ultimes décrites précédemment. Cependant, les réseaux trophiques des rivières restent encore peu étudiés. Par exemple, l'étude bibliographique mondiale de Vander Zanden & Fetzer (2007), portant sur les écosystèmes aquatiques, recense 219 études, dont 47 pour le milieu marin, 126 pour les lacs, et seulement 46 pour les rivières. Parmi ces rivières, une seule se trouve en Europe. Même si cette étude n'est pas exhaustive, cette répartition est représentative des efforts de recherche actuels. Les lacs présentent l'avantage d'avoir des limites bien définies (Persson *et al.*, 1992 ; Sabo *et al.*, 2009), ce qui facilite la définition de l'écosystème étudié. Par ailleurs, ils fournissent généralement des ressources halieutiques non négligeables. Ces deux raisons peuvent expliquer l'intérêt dominant que lui ont porté les chercheurs. À l'inverse, les rivières font partie des systèmes dits « ouverts », pour lesquels il n'y a pas de superposition des différents types de limites (voir figure 0.3). Par définition, une rivière est un écoulement d'eau unidirectionnel du point le plus haut vers le point le plus bas, en raison de la gravité. La surface qui reçoit l'eau des précipitations et qui alimente le cours d'eau est appelée bassin versant (Amoros & Petts, 1993). Ces notions de flux unidirectionnel et de bassin versant sont fondamentales pour la compréhension du fonctionnement de ces écosystèmes.

L'existence du flux d'eau entraîne également l'existence d'un flux unidirectionnel de matière organique et d'éléments minéraux. Ces flux s'accompagnent d'une modification de

l'hydrologie, de la morphologie et de la physicochimie du cours d'eau de l'amont vers l'aval. Généralement, la partie supérieure des cours d'eau présente une forte pente, une largeur réduite, un faible débit et un courant fort. Les processus d'érosion sont prédominants et le substrat est majoritairement constitué de blocs. La température moyenne mensuelle n'excède pas 20 °C et l'eau est bien oxygénée. Plus à l'aval, la pente se réduit, la largeur et le débit augmentent tandis que la vitesse de courant diminue. Les processus d'érosion régressent au profit de la sédimentation. Le substrat devient de plus en plus fin passant des blocs aux galets puis aux graviers. Au fur et à mesure que la pente et la vitesse diminuent, la largeur et le débit augmentent et les processus de sédimentation deviennent prépondérants. La granulométrie s'affine avec des dépôts de sables et de limons. Enfin, la température connaît des variations saisonnières importantes et des déficits en oxygène sont possibles (Amoros & Petts, 1993). Ces modifications progressive des conditions écologiques de l'amont vers l'aval du cours d'eau sont rassemblées sous le nom de gradient longitudinal.

En lien avec ce gradient longitudinal, les communautés biologiques se modifient de l'amont vers l'aval, s'adaptant d'une part, aux contraintes du milieu (température, oxygène dissous, substrat, force de cisaillement), et d'autre part, aux ressources alimentaires. Par exemple, pour les communautés piscicoles, cela se traduit par une prédominance des espèces invertivores à l'amont, qui régressent au profit des espèces omnivores-piscivores à l'aval (Oberdorff *et al.*, 1993 ; Ibañez *et al.*, 2009). Le « River continuum concept » (RCC), développé par Vannote *et al.* (1980), propose une modification continue des peuplements de macroinvertébrés benthiques le long du gradient longitudinal, en fonction des flux de matière organique et d'énergie. Ce concept a été développé, à l'origine, pour les cours d'eau tempérés et est donc adapté, en premier lieu, à ce type de cours d'eau (Hoeinghaus *et al.*, 2007). En climat tempéré, la végétation riparienne⁶ est constituée d'arbres et d'arbustes ; ils forment la ripisylve. La ripisylve joue un rôle primordial dans les flux de matière organique et d'énergie que reçoit un cours d'eau. On a vu précédemment qu'un écosystème tire son énergie, d'une part sous forme d'énergie lumineuse, et d'autre part sous forme d'énergie chimique. La ripisylve influence la disponibilité de ces deux sources d'énergie. À l'amont, la largeur du cours d'eau est faible et la ripisylve couvre entièrement le cours d'eau. La quantité d'énergie lumineuse atteignant le cours d'eau est donc extrêmement réduite. À l'inverse, la végétation de la ripisylve introduit une part importante de matière organique allochtone (débris végétaux, feuilles mortes, insectes...) ⁷ dans le cours d'eau. Enfin, dans cette partie des cours d'eau, il y a encore très peu de matière organique dérivant de l'amont. Le fonctionnement de l'amont des cours d'eau dépend donc essentiellement de la matière organique particulière grossière provenant du milieu terrestre ; la respiration est prépondérante par rapport à la production primaire, ce qui est caractéristique d'un écosystème hétérotrophe. Plus en aval, l'augmentation de la largeur du cours d'eau laisse pénétrer plus de lumière, ce qui profite aux végétaux

6. Végétation qui pousse sur les rives d'un cours d'eau.

7. Cette matière organique produite par le milieu terrestre est qualifiée d'allochtone, par opposition à la matière organique autochtone, qui est produite dans le cours d'eau, par les organismes autotrophes aquatiques.

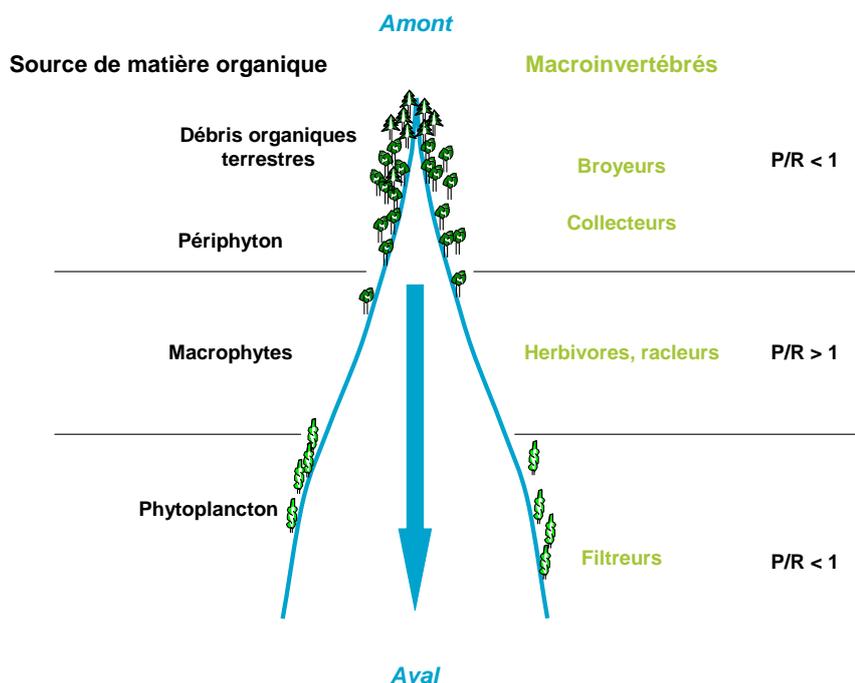


FIGURE 0.4 – Relation entre taille du cours d'eau, source de matière organique et stratégie alimentaire des communautés de macroinvertébrés selon le RCC (Vannote *et al.*, 1980).

(périphyton, périlithon, puis macrophytes) et apporte une nouvelle source d'énergie et de matière organique au cours d'eau. La part relative de matière organique particulaire grossière allochtone diminue, puisque la longueur de rives n'augmente pas avec la largeur. À ces deux sources de matière organique, s'ajoute la matière organique particulaire fine qui dérive de l'amont. Au fur et à mesure que la largeur augmente, la part de la production primaire devient prépondérante et l'écosystème passe d'un fonctionnement hétérotrophe à un fonctionnement autotrophe. Dans la partie la plus aval des cours d'eau, la production primaire des macrophytes est limitée par la profondeur et la turbidité, due aux matières en suspension dérivant de l'amont. Cependant, le plus faible courant permet le développement d'un abondant phytoplancton. Le fonctionnement du cours d'eau est le plus souvent hétérotrophe et repose essentiellement sur la matière organique fine dérivant de l'amont et sur le phytoplancton. Ce gradient longitudinal de la matière organique et de l'énergie conditionne la distribution des macroinvertébrés. À l'amont, la communauté est d'abord dominée par des broyeurs qui exploitent les débris végétaux grossiers puis par les collecteurs qui se nourrissent de particules organiques fines. Ensuite, le développement des algues fixées s'accompagne de la présence des animaux herbivores racleurs. Enfin, l'aval du cours d'eau voit proliférer les animaux collecteurs, en particulier les filtreurs (figure 0.4).

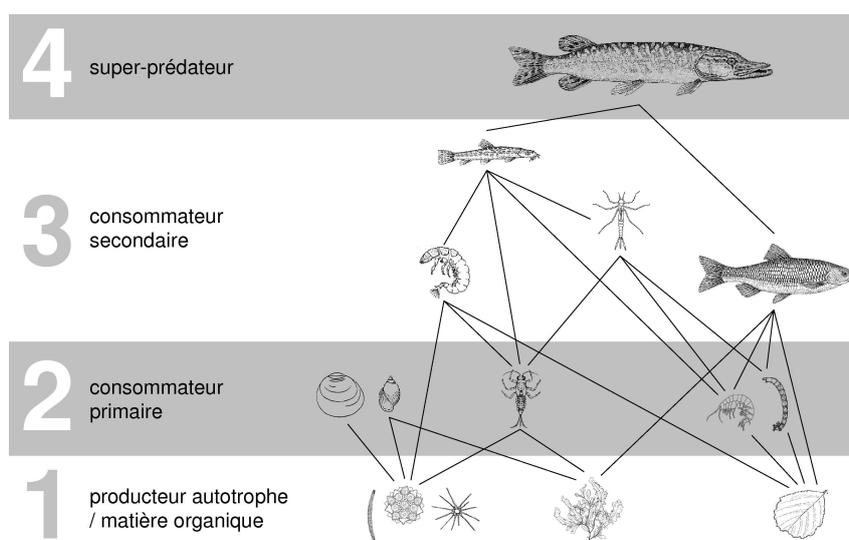


FIGURE 0.5 – Schéma simplifié du réseau trophique d'un cours d'eau tempéré.

Ce schéma théorique est à moduler en fonction du contexte géographique (arrivée d'affluents), du climat et des interventions humaines (construction de barrage) (Amoros & Petts, 1993). De plus, il existe également d'autres concepts comme le « River habitat templet », reliant l'organisation des communautés biologiques à l'hétérogénéité spatiale et temporelle de l'habitat (Townsend & Hildrew, 1994) ou le « Riverine productivity model » (Thorp & Delong, 1994) qui souligne l'importance de la palatabilité de la matière organique en plus de sa disponibilité. Si ces modulations rappellent que la réalité est plus complexe que le cadre théorique proposé par le RCC, la structuration longitudinale des cours d'eau n'en reste pas moins une caractéristique fondamentale du fonctionnement de ce type d'écosystème. Cela confère leur particularité aux réseaux trophiques des écosystèmes lotiques : les sources de matière organique et d'énergie sont de deux origines (aquatique ou terrestre) et leur part relative dépend de la position sur le gradient longitudinal (Chang *et al.*, 2012). La figure 0.5 donne une représentation énergétique d'un réseau trophique, tel qu'on peut l'observer dans un cours d'eau.

Selon le RCC, le rôle de la ripisylve est déterminant dans l'origine de la matière organique et de l'énergie. Le couvert arborescent limite la photosynthèse aquatique et fournit de la matière organique. Cela montre bien l'importance des interactions entre le cours d'eau et les écosystèmes terrestres de ses rives. Le bassin versant dans son ensemble, a également une influence sur le fonctionnement des cours d'eau. La pente, la profondeur, la largeur, le débit et le transport solide dépendent de processus qui se déroulent à l'échelle du bassin versant (Amoros & Petts, 1993). Pour le fonctionnement trophique, l'occupation des sols influence le ruissellement, l'érosion, la quantité de nutriments et la quantité de matière organique terrestre entrant dans le cours d'eau. Par conséquent, étudier le réseau trophique d'un cours d'eau peut amener à considérer des phénomènes dont les limites

dépassent largement celles du milieu aquatique.

Le choix des limites d'un écosystème lotique n'est donc pas anodin. Il peut conduire à exclure ou inclure des processus en fonction de l'échelle considérée. Cela n'est pas un problème en soi mais doit être pris en considération lors de l'élaboration du plan d'échantillonnage. En fonction des hypothèses testées, il faut déterminer ce qui fait partie du réseau. Deux compartiments du réseau trophique d'un cours d'eau restent cependant difficiles à échantillonner : il s'agit du super-prédateur et des bactéries. Comme souligné précédemment, le nombre de super-prédateurs dans un réseau trophique est limité. De plus, leur taille leur confère une plus grande mobilité spatiale que les autres membres du réseau. Il est donc plus difficile de l'échantillonner. Les bactéries sont certes en nombre considérablement plus important, mais leur identification est nettement plus difficile. De plus, leur richesse spécifique est beaucoup plus grande et dépend fortement des microhabitats. Leur échantillonnage est donc tout aussi ardu. Il faut donc garder à l'esprit qu'un réseau trophique n'est qu'une « modélisation » de la biocénose et qu'elle ne peut prétendre contenir toutes les formes vivantes présentes dans un biotope donné (Drouin, 1984).

Isotopes stables

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 différents⁸. Ils peuvent être stables ou se désintégrer au cours du temps. Les isotopes ont la même structure électronique et possèdent donc des propriétés chimiques quasiment identiques. En revanche, leur masse est différente en raison du nombre différent de neutrons, ce qui implique, par exemple, des vitesses de réaction légèrement différentes. Dans la nature, les différents isotopes d'un élément sont présents dans différentes proportions, appelées abondances (voir tableau 0.1). Le rapport entre les abondances de deux isotopes (par

TABLEAU 0.1 – Abondance naturelle des deux isotopes stables du carbone.

Élément	Isotope	Abondance
Carbone	¹² C	98,93 %
	¹³ C	01,07 %

convention lourd sur léger) est appelé ratio isotopique. L'analyse au spectromètre de masse à ratio isotopique détermine l'écart relatif entre les ratios isotopiques de l'échantillon et d'un standard international. Ce rapport est noté δ et est appelé signal isotopique

8. Étymologiquement, isotope vient du grec et signifie « même place » indiquant que les différents isotopes d'un même élément occupent la même place dans le tableau périodique.

	processus (homme)	terrestre	marin
$\delta^{13}\text{C}$ $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	photosynthèse (agriculture) C4/C3/CAM (CO2 atmosphère) conditions ambiantes	↘ latitude ↗ altitude ↘ humidité	↘ latitude ↗ hémisphère nord ↗ benthique marin > terrestre
δD $^2\text{H}/^1\text{H}$ $\delta^{18}\text{O}$ $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$	précipitations (cycle de l'eau: température irrigation, barrage) altitude (chgmt climat) humidité	↘ latitude ↘ altitude ↗ vers océan ↘ saisons	↘ latitude ↗ hémisphère nord ↗ benthique marin > terrestre
$\delta^{206,207,208}\text{Pb}$ $^{208,207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	[] plantes (pol. atmosphère) selon géologie	↗ sols anciens	↘ eaux profondes ↘ température ↘ profondeur
$\delta^{15}\text{N}$ $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$	fixation N (agriculture: symbiose fertilisation/fumure conversion Natm. modif. NH4+)	↗ humidité	↗ hémisphère nord marin > terrestre
$\delta^{87}\text{Sr}$ $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	géologie (nucléaire) dépôts atmosph. pol. atmosph. carrières/mines)	↗ sols calcaires ↗ sols anciens/granitiques	
$\delta^{34}\text{S}$ $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$	géologie (pol. atmosph.) dépôts atmosph. plantes anaérobies	↗ marais	↗ estuaire ↗ littorale ↗ benthique marin > terrestre

FIGURE 0.6 – Variation des ratios isotopiques dans l'environnement. J.-M. Roussel d'après Rubenstein & Hobson (2004).

(équation 1).

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

où R est le ratio isotopique.

Un signal positif signifie donc que l'échantillon est plus enrichi en isotope le plus lourd que le standard international. Dans le cas des isotopes stables, il n'y a pas de désintégration du noyau et les signaux isotopiques ne changent pas tant qu'il n'y a pas de réactions chimiques. Les isotopes stables sont donc des marqueurs naturels dont le signal ne s'efface pas au cours du temps, contrairement aux isotopes radioactifs. En revanche, comme ce marquage est naturel et dépend uniquement des réactions chimiques, les signaux isotopiques de sources différentes de matière organique peuvent être identiques ce qui empêchera alors de distinguer ces sources. La figure 0.6 décrit les variations dans l'environnement des ratios isotopiques de quelques éléments couramment utilisés en écologie.

Les isotopes stables sont utilisés depuis près de 40 ans dans le domaine de l'écologie et de l'environnement (Ehleringer *et al.*, 1986). Dans le cas des écosystèmes dulçaquicoles, ce sont principalement les signaux isotopiques du carbone et de l'azote qui sont employés pour étudier les relations trophiques, car ces deux éléments constituent une part importante de la matière organique⁹. Le principe de l'approche isotopique repose sur le fait que

9. Plus occasionnellement, d'autres éléments sont également utilisés pour ce type d'écosystèmes, comme le strontium (Hobson, 1999) ou l'hydrogène (Finlay *et al.*, 2010).

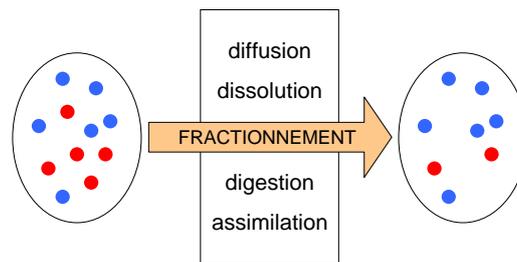


FIGURE 0.7 – Schéma de principe du fractionnement isotopique. Les couleurs symbolisent des isotopes différents.

la matière organique d'un être vivant provient des éléments nutritifs qu'il a assimilés. Le signal isotopique de cette matière organique est donc lié aux signaux de ce qui a été assimilé ; c'est le principe d'un marqueur (DeNiro & Epstein, 1978, 1981 ; Hobson & Welch, 1992). En fait, comme les isotopes stables réagissent différemment au cours des processus de digestion et d'assimilation en raison de leur masse différente, le signal de la nouvelle matière organique est légèrement différent de ce qui a été assimilé. Généralement, à cause des vitesses de réaction différentes, il se produit une sélection entre les différents isotopes, qui est appelée fractionnement isotopique (figure 0.7). Pour le carbone et l'azote le fractionnement isotopique se traduit par un enrichissement en isotope le plus lourd dans les tissus du consommateur, par rapport aux tissus consommés. Plus précisément, Post (2002b) a montré qu'en moyenne, le fractionnement isotopique entre chaque niveau trophique est de $3,4 \pm 1,0 \text{ ‰}$ pour l'azote et de $0,4 \pm 1,3 \text{ ‰}$ pour le carbone. Concrètement, le signal isotopique en azote d'un prédateur est égale à la moyenne pondérée des signaux de ses proies augmentée de $3,4 \text{ ‰}$. La position des espèces sur l'axe azote en fonction de leur signal isotopique est donc une représentation directe de leur niveau trophique au sein du réseau (Vander Zanden & Rasmussen, 1999). Pour le carbone, le fractionnement est beaucoup plus faible et le signal isotopique du prédateur peut être assimilé à la moyenne des signaux de ses proies. La position des espèces sur l'axe carbone en fonction de leur signal isotopique renseigne donc sur les sources de carbone utilisées par les différentes espèces (Rounick & Hicks, 1985). En plaçant les espèces dans le plan carbone-azote en fonction de leurs signaux isotopiques, on obtient une représentation du réseau trophique (figure 0.8). Au niveau d'un organisme, le signal isotopique varie comme la matière organique. Il est donc évident qu'au sein d'un être vivant, des tissus différents aient des signaux isotopiques différents (e.g. Pinnegar & Polunin, 1999 ; Jardine *et al.*, 2005b). Par ailleurs, la matière organique d'un tissu évolue lors de la création de nouveaux éléments constitutifs du tissu (phase de croissance) et lors du remplacement d'anciens éléments dégradés (métabolisme d'entretien). Ces modifications partielles de la matière organique s'accompagnent d'un changement de signal isotopique, le « turnover isotopique » (MacAvoy *et al.*, 2001). Par extension, le temps théorique nécessaire pour remplacer toute la matière organique d'un tissu est appelé « turnover rate ». Il correspond au temps nécessaire pour que le signal isotopique du tissu corresponde à celui de son régime alimentaire, après un changement

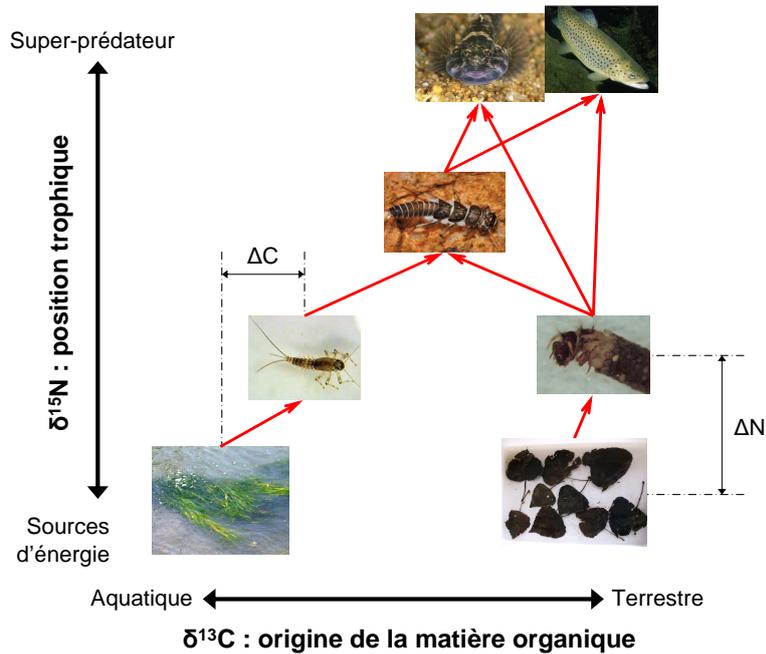


FIGURE 0.8 – Principe de l'utilisation des isotopes stables pour les études de réseau trophique. Les principaux transferts d'énergie s'effectuent suivant le sens des flèches. ΔC et ΔN représente le fractionnement isotopique existant entre un consommateur et sa nourriture. Selon Post (2002b), $\Delta C \approx 0,4$ et $\Delta N \approx 3,4$.

de diète (Perga & Gerdeaux, 2005). Au bout de ce temps, la mémoire isotopique du tissu est totalement effacée.

Traditionnellement, l'études des réseaux trophiques des écosystèmes dulçaquicoles est fondée sur l'étude des contenus stomacaux (GCA pour « gut content analysis »). La GCA consiste à identifier et dénombrer les proies contenues dans le tractus digestif. Pour cela, on peut pratiquer des lavements d'estomac (contenu partiel), mais c'est plus généralement la dissection qui est choisie (contenu total). Outre le fait que cette méthode demande beaucoup de temps pour réaliser les dissections, elle comporte aussi quelques limites. Tout d'abord, l'identification des proies requiert une bonne connaissance taxonomique de tous les macroorganismes vivant dans le cours d'eau. De plus, l'identification et le dénombrement des proies sont rendus difficiles par les processus de digestion, qui diffèrent d'un organisme à l'autre. Cela peut conduire à une surestimation des proies dont le corps contient des parties coriaces. Il faut également bien choisir le moment du prélèvement pour qu'il soit le plus proche du pic d'alimentation (estomac plein), mais la GCA ne fournit de toute façon qu'une représentation instantanée de l'alimentation d'un individu qui peut ne pas être représentative de son régime alimentaire. Pour minimiser ces effets, il faut donc prélever un grand nombre d'individus de la même espèce à des pé-

riodes différentes. Enfin, dans le meilleur des cas, la GCA décrit ce qui a été ingéré et cela inclus notamment beaucoup de matière qui n'est jamais assimilée (par exemple, les os, les écailles) (Michener & Lajtha, 2007). Avec les progrès technologiques de la spectrométrie de masse à ratio isotopique, la détermination du signal isotopique d'un échantillon solide ne coûte plus qu'une dizaine d'euros, ne requiert qu'une quantité limitée d'échantillon (< 2 mg de matière sèche) et ne dure que dix minutes. Ils offrent donc la possibilité de réaliser des études à large échelle dans des délais et avec des coûts raisonnables. De plus, par principe, le signal isotopique d'un individu est lié aux signaux isotopiques de ce qu'il a ingéré et assimilé : les isotopes stables fournissent donc une image de ce qui est assimilé et non uniquement de ce qui a été ingéré (Bearhop *et al.*, 2004). En fonction du « turnover rate », qui est variable d'une espèce à l'autre (MacIntyre & Flecker, 2006), le signal isotopique d'un tissu correspond à la moyenne des signaux de tous les éléments ingérés au cours du temps pour aboutir à cette matière organique. Les isotopes stables offrent ainsi une intégration dans le temps de la variabilité des comportements trophiques (Vander Zanden & Rasmussen, 1999) ; contrairement à l'approche par GCA dont les résultats dépendent étroitement des proies ingérées dans les heures qui précèdent le prélèvement, le moment précis de l'échantillonnage n'a donc pas d'importance. Pour des animaux à forte mobilité, comme les poissons migrateurs, l'intégration dans le temps signifie également une intégration dans l'espace (Layman *et al.*, 2007b ; Rasmussen *et al.*, 2009). Dans ce cas, c'est le lieu d'échantillonnage qui n'a plus d'incidence sur la détermination des régimes alimentaires, contrairement à la GCA. Inversement, l'approche isotopique ne permet pas d'obtenir une aussi bonne résolution taxonomique que l'approche GCA. En effet, comme les animaux peuplant les cours d'eau sont souvent omnivores ou polyphages (Jepsen & Winemiller, 2002), ils se nourrissent sur un grand nombre de proies, et la plupart du temps, il est impossible de déterminer au niveau taxonomique ce qu'ils ont assimilé (Rybczynski *et al.*, 2008). Par ailleurs, le fractionnement trophique n'est pas le même pour toutes les espèces (il existe par exemple des différences entre les espèces herbivores et carnivores (Vander Zanden & Rasmussen, 2001)) et il peut également varier au sein d'une même espèce (par exemple pour des individus de taille différente (Sweeting *et al.*, 2007a,b)). Le « turnover rate » dépend lui aussi des organismes étudiés (les algues ou les bactéries ont des « turnovers » bien plus rapides que les poissons) et de l'âge des individus (les jeunes individus en pleine croissance ont généralement des « turnover rate » plus élevés que les individus adultes (Grey, 2001 ; Trueman *et al.*, 2005)). Ces différences de « turnover » entraînent des distorsions temporelles entre les signatures isotopiques des compartiments « rapides » (producteurs primaires, consommateurs primaires) et « lents » (prédateurs) du réseau trophique (e.g. Schmidt *et al.*, 2003). Enfin, on peut également rappeler que la distinction des sources de matière organique dans le réseau trophique n'est possible que si ces sources ont des signaux isotopiques différents.

Problématique et organisation du manuscrit

Malgré le nombre croissant d'études utilisant les isotopes stables en écologie aquatique, les recherches portant sur les réseaux trophiques des cours d'eau européens restent

limitées. L'article de revue précédemment cité de Vander Zanden & Fetzer (2007) reflète ce constat, avec une seule étude de ce type en Europe sur les 47 recensées. Jusqu'à présent, la plupart des études se sont d'ailleurs focalisées sur le régime alimentaire d'un nombre restreint d'espèces et les rares études consacrées aux réseaux trophiques concernent des cours d'eau de grande taille. Il existe donc un besoin d'études empiriques sur le réseau trophique pour mieux comprendre le fonctionnement des écosystèmes lotiques.

L'objectif de ce travail est de préciser l'organisation trophique des cours d'eau européens par l'approche des isotopes stables. En particulier, il s'agit d'étudier la manière dont le réseau trophique se structure en fonction de différentes conditions environnementales. Mon travail s'est focalisé sur trois hypothèses qui m'ont semblé incontournables dans l'état actuel des connaissances. La première question soulevée dans ce manuscrit a pour objet l'impact du gradient longitudinal sur le réseau trophique. Étant donné le fort rôle structurant du gradient sur le fonctionnement des écosystèmes lotiques (e.g. RCC), il apparaît indispensable d'étudier les altérations potentielles du réseau trophique par le gradient longitudinal, avant d'analyser les effets d'autres facteurs environnementaux. Sans cela, il est possible que les effets du gradient confondent nos observations. De plus, le gradient longitudinal fait varier concomitamment les trois causes ultimes et offre ainsi la possibilité de tester leur effet simultané. Par ailleurs, la richesse spécifique est susceptible d'avoir une forte influence sur le réseau trophique, par exemple via les mécanismes d'addition et d'insertion. Or, la richesse spécifique est censée augmenter de l'amont à l'aval des cours d'eau (Mullen *et al.*, 2011) et elle pourrait donc expliquer l'effet du gradient longitudinal sur le réseau trophique. Pour cette raison, j'ai examiné si l'influence du gradient longitudinal était due à un effet direct ou s'il agissait par le biais de la richesse spécifique. La deuxième question abordée par ce travail, concerne l'hypothèse de stabilité dynamique. Comme souligné précédemment, trois hypothèses principales sont actuellement avancées pour expliquer le fonctionnement des réseaux trophiques (la disponibilité des ressources, la taille et la stabilité de l'écosystème). Jusqu'à présent, il n'y a pas de consensus concernant les effets de ces trois causes ultimes, et parmi elles, l'hypothèse de la stabilité dynamique est celle dont l'effet est le moins clair actuellement (Takimoto & Post, 2012). Récemment, l'étude de MacHugh *et al.* (2010) a apporté un nouvel éclairage sur cette hypothèse : utilisant pour la première fois, un indice multivarié intégrant entre autres la température pour mesurer la stabilité de l'écosystème, ils ont apporté un nouveau soutien à l'hypothèse de stabilité dynamique. En conséquence, la variabilité thermique pourrait jouer un rôle majeur dans cette hypothèse. C'est pourquoi, j'ai testé si la variabilité thermique seule pouvait réduire la longueur de chaîne trophique. Profitant d'une collaboration avec l'équipe « écosystèmes d'eaux courantes » d'Irstea Aix-en-Provence, j'ai disposé du jeu de données isotopiques, permettant de tester cette hypothèse. Enfin, la troisième question porte sur l'influence de l'occupation des sols sur le fonctionnement du réseau trophique. Nous avons vu précédemment que les écosystèmes lotiques disposent uniquement de deux grandes sources de matière organique possibles : la matière autochtone produite dans la rivière et la matière allochtone provenant du milieu terrestre. Or, la prépondérance d'une source de matière organique par rapport à l'autre dépend fortement de la ripisylve et plus

généralement de l'occupation des sols. J'ai donc testé l'influence de l'occupation des sols sur le fonctionnement trophique, et en particulier sur les sources de matière organique. À cette occasion, j'ai considéré une échelle régionale, celle du bassin versant, et une échelle locale, celle du corridor fluvial, pour clarifier l'articulation des effets de l'occupation des sols à ces deux échelles.

Après l'introduction, la première partie de ce mémoire présente la méthodologie développée pour réaliser ce travail. Puis, les trois questions abordées sont présentées successivement dans trois parties. Les deux premières questions ont fait l'objet chacune de la réaction d'un article. Ainsi, les deux parties qui y sont consacrées se focalisent sur les principaux résultats obtenus ; les aspects méthodologiques sont décrits plus en détails dans les articles correspondants, présentés à la fin du mémoire. En revanche, la troisième partie n'a pas fait l'objet de rédaction d'article, à ce stade. Elle aborde donc de manière plus détaillée la méthodologie particulière au traitement de la troisième question.

Première partie

Méthodologie

Chapitre 1

Analyses isotopiques

Si mon travail de thèse vise *in fine* à mieux comprendre le fonctionnement écologique et trophique des cours d'eau, il comporte une dimension pratique et méthodologique qui ne peut être négligée. Ainsi une part importante de mon activité a-t-elle été consacrée à la collecte d'échantillons sur le terrain, à leur préparation, ainsi qu'aux analyses isotopiques dont j'ai assuré l'intégralité de la mise en œuvre. Le présent chapitre reprend de manière synthétique les principales étapes des analyses isotopiques réalisées. Il présente aussi les solutions méthodologiques que j'ai développées, afin d'adapter au mieux le matériel analytique disponible au niveau de l'unité Hydrosystèmes et Bioprocédés (HBAN) d'Irstea aux types d'échantillon et de matrices analysées dans le cadre de cette thèse.

1.1 Principes

Les analyses isotopiques ont été menées avec un spectromètre de masse à ratio isotopique DeltaV Plus (Thermo Scientific, Brême, Allemagne), couplé à un analyseur élémentaire FlashEA 1112 Series (Thermo Electron, Brême, Allemagne), par l'intermédiaire de l'interface à flux continu ConFlo III (Thermo Electron, Brême, Allemagne). Cet équipement (figure 1.1) permet de déterminer simultanément les signaux isotopiques du carbone et de l'azote de nos échantillons solides¹. L'analyseur élémentaire sert à transformer les échantillons solides sous forme de gaz au cours d'une combustion, le spectromètre ne pouvant analyser que cette phase. Dans le cas du carbone et de l'azote, la combustion aboutit à la formation de dioxyde de carbone (CO₂) et de diazote (N₂). En fonction de leur composition isotopique, ces molécules peuvent avoir chacune trois masses molaires différentes (tableau 1.1). Le rôle de l'interface est de gérer l'entrée des différents gaz dans le spectromètre de masse : les gaz issus de l'analyseur élémentaire, mais aussi les gaz de référence et l'hélium qui est le gaz transporteur et qui permet de protéger le spectromètre de masse des perturbations extérieures. Enfin, le spectromètre de masse ionise, accélère et dévie ces gaz pour en déterminer la composition isotopique. Une fois le spectromètre

1. L'équipement peut également être configuré pour déterminer les signaux isotopiques de l'oxygène et de l'hydrogène simultanément ou du soufre.

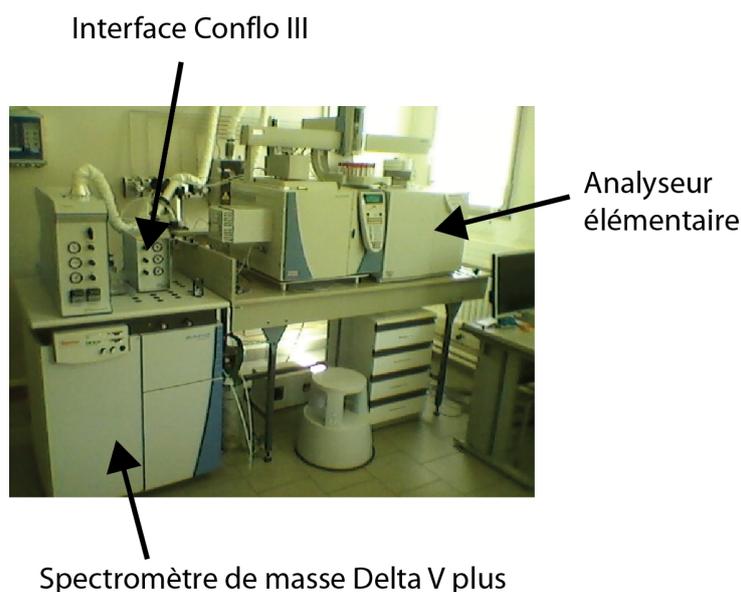


FIGURE 1.1 – Photo de l'équipement analyseur élémentaire — interface — spectromètre de masse à ratio isotopique.

de masse correctement relié à l'analyseur élémentaire via l'interface, les seules parties de l'équipement sur lesquelles l'expérimentateur peut jouer pour améliorer les performances analytiques sont l'analyseur élémentaire et le spectromètre de masse.

TABLEAU 1.1 – Composition isotopique des molécules de CO₂ et de N₂, masses molaires associées et abondances naturelles

Molécule	Masse molaire (g · mol ⁻¹)	Composition isotopique	Abondance naturelle
CO ₂	44	¹² C ¹⁶ O ¹⁶ O	abondant
	45	¹³ C ¹⁶ O ¹⁶ O	fréquent
	46	¹² C ¹⁶ O ¹⁷ O	rare
		¹² C ¹⁶ O ¹⁸ O	fréquent
		¹³ C ¹⁶ O ¹⁷ O	très rare
		¹² C ¹⁷ O ¹⁷ O	extrêmement rare
N ₂	28	¹⁴ N ¹⁴ N	abondant
	29	¹⁴ N ¹⁵ N	fréquent
	30	¹⁵ N ¹⁵ N	rare

1.2 Analyseur élémentaire

L'analyseur élémentaire a pour fonction de transformer les échantillons solides en gaz (N_2 et CO_2 dans notre cas). Cette transformation peut potentiellement être source d'erreurs analytiques importantes. En effet, les différents isotopes d'un même élément ne vont pas réaliser cette transformation à la même vitesse. Ainsi, si la transformation n'est pas complète, c'est à dire s'il reste de la phase solide après transformation, les isotopes les plus « rapides » (le plus souvent les plus légers) vont se retrouver principalement dans la phase gazeuse et le ratio isotopique de la phase gazeuse sera faussé par rapport au ratio de l'échantillon solide initial. Il faut donc veiller à ce que cette transformation soit la plus complète possible, ou alors s'assurer qu'elle affecte les différents isotopes de la même manière.

Pour réaliser cette transformation (solide \rightarrow gaz), l'analyseur élémentaire procède en deux étapes : une phase d'oxydation, suivie d'une phase de réduction. L'oxydation transforme l'échantillon solide en oxydes d'azote (NO_x) et monoxyde/dioxyde de carbone. L'oxydation se déroule dans un tube de quartz chauffé à 920 °C, appelé « four ». L'échantillon, disposé dans une nacelle en étain, est introduit par le passeur dans le four, où du dioxygène (O_2) est injecté. En raison des hautes températures et de la présence de O_2 , l'échantillon se vaporise et commence à être oxydé. Ces gaz sont aussitôt transportés par le gaz transporteur (hélium) et passent à travers un premier réactif oxydant (généralement de l'oxyde de chrome)², qui sert à catalyser l'oxydation. Après cette étape, l'échantillon solide est totalement transformé en gaz (NO_x , CO ou CO_2 , mais aussi SO_x). Au cours de cette première étape, le flux de O_2 , le moment et la durée de l'injection, ainsi que la quantité de réactif oxydant influencent la qualité de l'oxydation. Le flux et la durée de l'injection déterminent la quantité de O_2 qui est injectée dans le système (s'il y a trop peu de O_2 , l'oxydation est incomplète. Inversement, si O_2 est en excès, il peut être introduit dans le spectromètre de masse et dans ce cas, il réagira avec les autres molécules dans la source pour former des molécules indésirables telles que NO)³. Le flux du gaz transporteur a aussi son importance : trop élevé, les gaz ne restent pas assez longtemps au contact du catalyseur et l'oxydation risque de ne pas être complète ; trop faible, les gaz sont dilués dans le temps et la forme du signal au cours du temps est très aplatie. Dans ce dernier cas, il faut alors plus de quantité d'échantillon pour atteindre une amplitude adéquate pour l'analyse par le spectromètre de masse.

Après les réactifs oxydants, les gaz traversent un autre réactif, l'oxyde de cobalt argenté, permettant de piéger les molécules souffrées. Puis, intervient la phase de réduction.

2. Pour des raisons de sécurité, la décision a été prise de remplacer l'oxyde de chrome (toxique) par de l'oxyde de cuivre, ce qui ne change pas les performances de l'appareil.

3. Le moment de l'injection est également important : si O_2 est injecté trop tôt, il sera emporté par le gaz transporteur sans avoir réagi avec l'échantillon. En revanche, si l'injection est trop tardive, les gaz de l'échantillon, vaporisés par la température, seront emportés par le gaz transporteur sans avoir réagi avec O_2 .

CHAPITRE 1. ANALYSES ISOTOPIQUES

Les gaz traversent alors un réactif réducteur (généralement du cuivre réduit) qui permet de transformer les molécules NO_x et CO en N_2 et CO_2 . Cette réduction intervient dans un second four, en série avec le premier, à la température de $650\text{ }^\circ\text{C}$. Contrairement à la phase d'oxydation, sur laquelle l'opérateur peut intervenir via de nombreux paramètres, la réduction ne peut être influencée que par la quantité de réactif réducteur utilisée. Enfin, avant de traverser la colonne chromatographique (chauffée à $45\text{ }^\circ\text{C}$) qui sépare N_2 de CO_2 , l'eau mélangée aux gaz est piégée par une trappe à eau, constituée de perchlorate de magnésium. La configuration standard de l'analyseur élémentaire fait donc intervenir deux fours, une trappe à eau et une colonne chromatographique. Le temps de rétention associé au passage de chacun de ces éléments, élargit et aplatit le signal d'échantillon arrivant au spectromètre de masse. Dans cette configuration, il faut environ 2 mg sec de tissus animaux pour obtenir une amplitude de signal suffisante pour l'analyse avec le spectromètre de masse. Cette masse est souvent considérable, représentant le poids sec de plusieurs individus, pour les macroinvertébrés comme les larves aquatiques d'éphémères. Pour cette raison, j'ai modifié la configuration de l'appareil, passant en simple four, ce qui a permis d'améliorer la sensibilité de l'équipement et d'analyser des échantillons ne pesant que $0,5\text{ mg}$.

Dans la configuration du simple four, les processus d'oxydation et de réduction ont lieu dans le même four. Évitant le passage d'un tube de quartz, on peut utiliser moins d'échantillon et obtenir des signaux de même amplitude. L'ordre des réactif dans le simple four est légèrement différent : les gaz traversent d'abord 5 cm d'oxyde de cuivre, puis 11 cm de cuivre réduit et enfin 3 cm d'oxyde de cobalt argenté, chaque réactif étant séparé l'un de l'autre par 1 cm de laine de quartz (figure 1.2). Le piège à soufre intervient en dernier, car il ne doit pas être soumis à de trop fortes températures, sous peine de larguer de l' O_2 . Or, la température du four s'élève à $920\text{ }^\circ\text{C}$ au centre du tube (niveau correspondant à la vaporisation de l'échantillon), ensuite la température du four décroît vers ses extrémités. La température est d'environ $650\text{ }^\circ\text{C}$ pour le cuivre réduit et c'est pour cela que l'on place l'oxyde de cobalt argenté en dernier. Ce changement de configuration a entraîné la modification des autres paramètres de combustion. De plus, il a également fallu vérifier que cette nouvelle configuration garantissait bien une transformation totale de la phase solide en gaz. En effet, les quantités de réactifs utilisés en configuration « simple four » sont pour moitié plus faibles que les quantités en configuration « double four ». Il a d'abord fallu tester que ces quantités étaient bien suffisantes pour effectuer une transformation totale et déterminer la quantité d' O_2 nécessaire à l'oxydation. Puis, j'ai déterminé le nombre maximal d'échantillons, qui pouvaient être transformés par le simple four, c'est-à-dire le moment à partir duquel un ou plusieurs réactifs ne sont plus présents en quantité suffisante pour garantir une transformation totale. Ces tests d'ajustement et de validation ont nécessité un mois de travail. L'avantage de la configuration « simple four » consiste à pouvoir réduire d'un facteur quatre la quantité de matière sèche d'échantillon à analyser. En revanche, comme les quantités de réactifs sont limitées dans le simple four, l'inconvénient est qu'il ne peut supporter que 400 échantillons (dans la configuration « double four », il est possible de passer plus d'un millier d'échantillons). Cela implique de

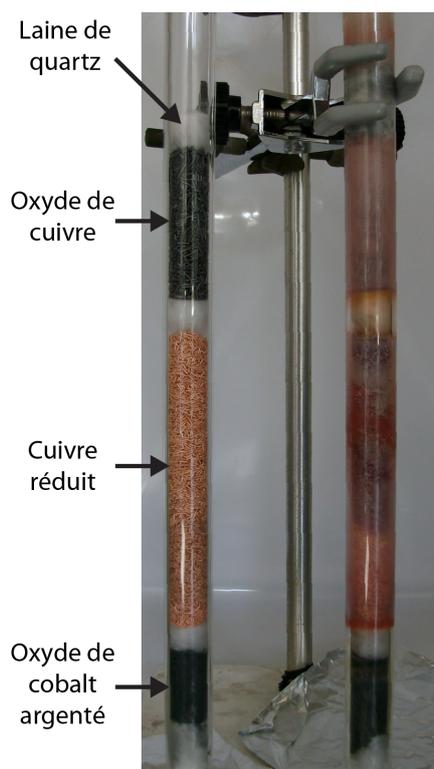


FIGURE 1.2 – Photo d’un four avant utilisation (à gauche), avec l’agencement des différents réactifs, et après utilisation (à droite). En particulier, le changement de couleur du cuivre réduit (d’orange à noir) montre son oxydation (à droite sur le four usagé) et confirme qu’après l’analyse de 300 échantillons, les réactifs du four ne sont pas totalement consommés et permettent donc d’effectuer une transformation totale.

réaliser des nouveaux fours⁴ et de les installer dans l’analyseur élémentaire, tous les 300 échantillons⁵. Au total, les analyses effectuées dans le cadre de mon doctorat ont nécessité 20 fours différents. Après chaque changement de four, il faut alors vérifier l’étanchéité des connexions, sous peine d’avoir un signal trop bruité pour l’analyse isotopique. En plus des renouvellements de four, la combustion des échantillons produit des cendres, qu’il faut retirer chaque centaine d’échantillons analysés, pour obtenir des performances optimales. Par ailleurs, il faut aussi changer régulièrement le perchlorate de magnésium de la trappe à eau, pour que ce piège reste efficace. Pour des raisons de commodité, il a été décidé de le faire en même temps que chaque renouvellement de four. Enfin, la colonne chromatographique nécessite aussi une maintenance qui consiste à la chauffer à 190 °C pendant 48 h tous les deux ou trois mois suivant l’usage.

4. L’agencement des réactifs au sein du tube de quartz a été réalisé par mes soins.

5. Nous avons fixé une marge de sécurité de 100 échantillons pour être sûr que la réaction soit bien totale.

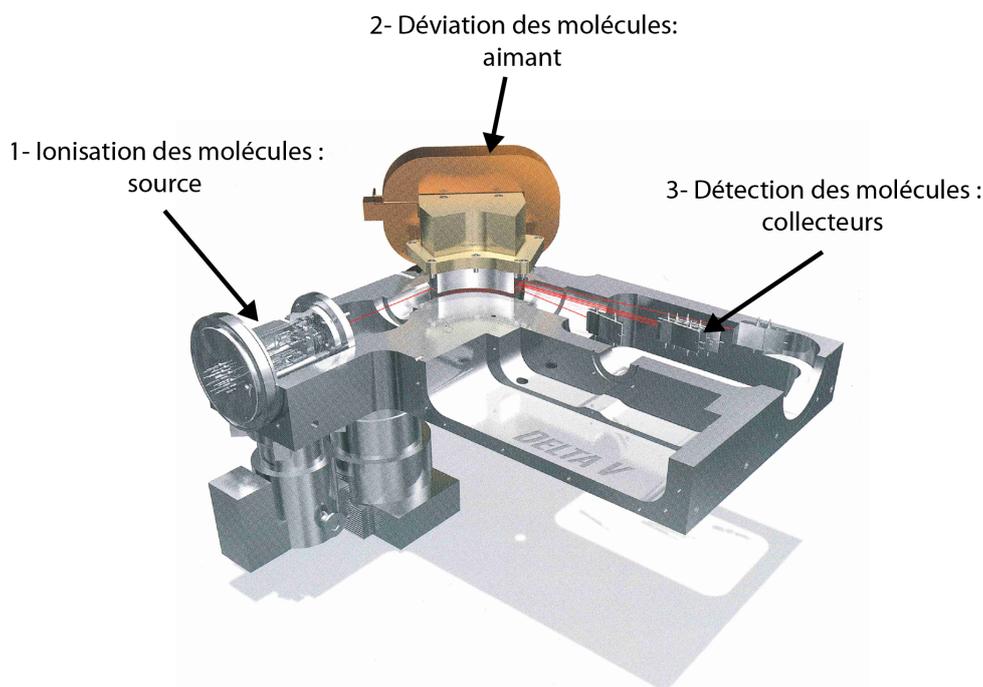


FIGURE 1.3 – Schéma du spectromètre de masse à ratio isotopique et cheminement des molécules de l'ionisation à la détection. D'après un dessin tiré de la brochure commerciale du DeltaV Plus, Thermo Scientific Bremen, Germany.

1.3 Spectromètre de masse à ratio isotopique

L'action du spectromètre de masse se déroule en trois temps (figure 1.3). Dans un premier temps, les molécules de gaz arrivent de l'interface dans la « source » du spectromètre. Sous l'effet d'une haute tension, le filament de la source émet un faisceau d'électrons qui ionise les molécules gazeuses en les percutant. Celles-ci sont alors accélérées et focalisées par plusieurs champs électromagnétiques et des lentilles. Dans un deuxième temps, ce faisceau de molécules ionisées est dévié par un champ magnétique, l'angle de déviation dépendant de la masse de la molécule, de sa charge et du champ magnétique. Toutes les molécules ayant la même masse suivent donc la même trajectoire, et cette déviation permet de trier les molécules en fonction de leur masse. Enfin, dans un troisième temps, les molécules arrivent dans les collecteurs du détecteur, où leur impact créent un courant électrique dont l'intensité est proportionnelle au nombre de molécules impactant le collecteur. Ce courant est ensuite amplifié par un jeu de résistances, avant d'être post-traité par l'ordinateur ; le signal obtenu s'exprime alors en mV et est proportionnel au nombre de molécules ayant impacté le collecteur. La position de chaque collecteur se trouve sur la trajectoire des molécules d'une masse donnée, et chaque collecteur ne mesure donc qu'une seule masse. Or, les isotopes sont répartis dans des molécules de masse différente (tableau 1.1 pour les isotopes du carbone et de l'azote), donc un seul collecteur ne suffit pas

pour déterminer les quantités de ^{12}C et ^{13}C ou ^{14}N et ^{15}N . Dans le cas du spectromètre DeltaV Plus, l'utilisation de trois collecteurs positionnés de manière *ad hoc*, permet de mesurer simultanément la quantité de molécules de trois masses voisines (par exemple, 44, 45 et 46 ou 28, 29 et 30 $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$). La détermination de l'amplitude du signal des molécules de ces trois masses, permet alors, via un algorithme, de calculer les quantités respectives de ^{12}C et ^{13}C ou ^{14}N et ^{15}N , ce qui donne $\delta^{13}\text{C}$ ou $\delta^{15}\text{N}$. La position des collecteurs dans le spectromètre de masse étant fixe, il faut donc faire varier le champ magnétique pour pouvoir détecter des éléments différentes avec les mêmes collecteurs. Le gain de place et la faisabilité technique sont les raisons de cette disposition, mais cela empêche de mesurer simultanément les isotopes d'éléments différents (comme par exemple le carbone et l'azote). Pour pouvoir malgré tout analyser les ratios isotopiques du carbone et de l'azote d'un même échantillon, une colonne chromatographique à phase gazeuse est placée en sortie de l'analyseur élémentaire pour séparer le CO_2 du N_2 . En raison de sa masse plus grande, le CO_2 reste plus longtemps adsorbé que le N_2 dans la colonne chromatographique et arrive donc plus tard dans l'interface et le spectromètre. Ce dernier est donc d'abord configuré pour détecter les ions de l'azote, puis un saut de configuration⁶ permet de détecter les ions du carbone. La détection des molécules est liée à leur masse, ce qui veut dire concrètement qu'on ne détecte pas une molécule chimique mais une masse. Ainsi le collecteur de la masse 30 détectera non seulement les molécules formées de deux azotes ^{15}N , mais également les molécules formées d'un azote ^{14}N et d'un oxygène ^{16}O . La mesure des ratios isotopiques nécessite donc d'avoir des gaz très purs arrivant dans la source, pour limiter la détection de molécules parasites. Dans le cas de l'azote, l'idéal est de n'avoir que du N_2 et de l'hélium.

1.4 Corrections des signaux isotopiques liées à la chaîne analytique

La maintenance du spectromètre de masse consiste principalement à entretenir les pompes à vide, à nettoyer la source, et à changer le filament qui produit le faisceau d'électron. Cette maintenance a été réalisée par les services techniques de Thermo Fischer Scientific. Il reste cependant un certain nombre d'opérations de contrôle et de réglage du spectromètre de masse à effectuer pour réduire l'erreur analytique au minimum.

Avant chaque analyse, il faut tout d'abord s'assurer que les mesures du spectromètre ne sont pas perturbées par des molécules parasites. Même si le vide à l'intérieur du spectromètre de masse est très poussé (environ $10^{-6} \cdot \text{mbar}$), il y a toujours un signal détecté (quelques dizaines de mV), qui constitue le bruit de fond. Au démarrage de chaque séquence, il convient de faire quelques centaines de mesures des gaz de référence, avant que ce bruit de fond ne se stabilise à sa valeur minimale.

6. Lors de ce saut de configuration ou « jump » : le champ magnétique passe très rapidement de la valeur calibrée pour dévier les ions de l'azote, à la valeur calibrée pour dévier les ions du carbone.

Ensuite, comme expliqué plus haut, les mesures des isotopes du carbone et de l'azote sur un même échantillon, demandent de changer rapidement le champ magnétique du spectromètre de masse entre la détection des isotopes de l'azote et celle des isotopes du carbone. Avant d'analyser une nouvelle série d'échantillons, il faut donc vérifier que ce « jump » s'effectue correctement. Pour cela, j'ai utilisé l'outil « jump calibration » du logiciel Isodat, fourni par Thermo Fischer Scientific avec le spectromètre de masse.

Le principe des spectromètres de masse à ratio isotopique, qui permet de détecter de très faibles variations isotopiques des échantillons, repose sur la comparaison entre la composition isotopique de l'échantillon et des gaz de référence dans un très court laps de temps. Cela permet d'éliminer les variations des conditions de détection qui existent d'un échantillon à l'autre. En revanche, cette comparaison suppose que les pulses des gaz de référence et les pics de l'échantillon aient la même amplitude. Pour obtenir des amplitudes identiques, on peut jouer sur plusieurs paramètres. Premièrement, l'amplitude des pics de l'échantillon dépendent de la masse analysée et de la teneur en carbone et en azote de l'échantillon. En modifiant la masse des échantillons, on peut changer l'amplitude des pulses. J'ai donc d'abord déterminé quelle masse d'échantillon il fallait peser pour obtenir une amplitude de pic de 5000 mV. Or, les teneurs en carbone et azote varient en fonction de la matrice organique analysée (par exemple le muscle de poisson contient environ 14 % d'azote, tandis que la nageoire en contient environ 7 %). Pour chacune des matrices, il a donc fallu faire quelques analyses préliminaires pour déterminer les teneurs moyennes en carbone et en azote, afin de déterminer la masse d'échantillon à peser pour obtenir l'amplitude voulue. Comme les teneurs en carbone et azote sont rarement égales, il a fallu trouver un compromis pour que les deux pics (carbone et azote) soient le plus proches possibles des 5000 mV⁷. La pesée des échantillons dans les nacelles d'étain doit donc être très précise pour limiter les variations d'amplitude dues à des masses différentes. Celle-ci a donc été réalisée avec une balance de précision (Sartorius, Ultramicro-Balance), à $\pm 10 \mu\text{g}$.

Deuxièmement, on peut aussi modifier l'amplitude des pulses de référence de façon à les ajuster au mieux à l'amplitude obtenue pour les échantillons de chaque matrice organique. Comme je l'ai expliqué ci-dessus, la masse à peser pour chaque matrice est un compromis entre l'ajustement de l'amplitude des pics du carbone et l'ajustement de l'amplitude des pics de l'azote. Dans la plupart des cas, les amplitudes des pics du carbone et de l'azote sont donc différentes des 5000 mV visés, c'est pourquoi il faut adapter l'amplitude des pulses de référence à ces amplitudes. Malgré tout, la teneur en carbone et en azote varie également entre les échantillons d'une même matrice : les amplitudes des pics des échantillons ne sont jamais exactement identiques aux amplitudes des pulses de référence. Il faut donc appliquer une correction sur les signaux isotopiques des échantillons

7. Pour les matrices végétales, les différences de teneur entre le carbone et l'azote sont telles, qu'il n'est pas possible d'obtenir des amplitudes satisfaisantes pour les deux pics avec une seule masse. Pour ces échantillons les signaux isotopiques du carbone et de l'azote ont donc été déterminés avec deux analyses différentes, réalisées sur des volumes d'échantillon adaptés à chacun des deux éléments.

1.4. CORRECTIONS DES SIGNAUX ISOTOPIQUES

pour tenir compte de cette différence entre amplitudes des pulses de références et des pics de l'échantillon (Werner & Brand, 2001).

Cette correction repose sur la linéarité de la source, cela signifie que le signal isotopique mesuré par le spectromètre de masse varie linéairement avec la quantité de molécules entrant dans la source. Il existe ainsi une relation linéaire entre les signaux isotopiques et l'amplitude des pics. En raison de l'usure du filament et de l'encrassement de la source, cette relation est variable dans le temps et il faut donc l'établir régulièrement (tous les deux à trois mois). Grâce à cette relation on établit le domaine de linéarité de la source (généralement entre 2000 et 12000 mV), pour lequel on pourra corriger les signaux isotopiques. En dehors de ce domaine, les signaux isotopiques des échantillons ne sont pas fiables et il faut procéder à une nouvelle analyse. Le signal isotopique corrigé (δ_{LC}) s'obtient à partir du signal brut (δ_{brut}) grâce à l'équation suivante :

$$\delta_{LC} = p \times \frac{A_{PR} - A_{\dot{E}}}{1000} + \delta_{brut} \quad (1.1)$$

avec p le coefficient de régression linéaire entre signal isotopique et amplitude, A_{PR} l'amplitude du pulse de référence analysé en même temps que l'échantillon et $A_{\dot{E}}$ l'amplitude du pic de l'échantillon. Les amplitudes sont les amplitudes des signaux mesurés à la masse molaire 44 pour le carbone et 28 pour l'azote, car ces deux masses sont celles des molécules de CO_2 et de N_2 les plus répandues⁸.

Après avoir corrigé les signaux isotopiques pour prendre en compte la différence d'amplitude entre pulses de références et pics de l'échantillon, d'autres corrections sont effectuées pour réduire l'erreur analytique commise par la chaîne analytique. Ces corrections nécessitent d'analyser des blancs⁹, des standards internationaux, ainsi que des contrôles de qualité (QC). L'analyse des blancs permet de contrôler que les nacelles d'étain ne perturbent pas les signaux isotopiques mesurés par le spectromètre de masse. La plupart du temps, lors de l'analyse des blancs, on observe un signal non négligeable pour l'isotope du carbone et on corrige le signal isotopique obtenu après la correction liée à la linéarité (δ_{LC}) en un nouveau signal (δ_{BC}) avec l'équation suivante :

$$\delta_{BC} = \frac{\delta_{LC} \times AT_{\dot{E}} - \delta_{blc} \times AT_{blc}}{AT_{\dot{E}} - AT_{blc}} \quad (1.2)$$

où δ_{blc} est le signal isotopique moyen de trois blancs, AT_{blc} est l'aire totale moyenne des pics des trois blancs et $AT_{\dot{E}}$ est l'aire totale de l'échantillon. L'aire totale est définie comme la somme des aires des pics mesurés aux trois masses molaires 44, 45 et 46 gmol^{-1} pour le carbone, et 28, 29 et 30 gmol^{-1} pour l'azote.

8. Les isotopes légers sont les plus abondants naturellement. Les molécules qui les contiennent sont donc aussi les plus fréquentes (tableau 1.1).

9. Tous les échantillons sont placés pour l'analyse avec l'analyseur élémentaire dans une nacelle d'étain, qui est fermée de façon à former une boulette. Une nacelle d'étain vide constitue un blanc.

Pour des raisons logistiques, l'analyse des échantillons est réalisée en automatique par séquence de 100 échantillons. La présence des QC, analysés tous les sept échantillons au cours d'une séquence, permet de quantifier la dérive des performances du spectromètre de masse et de contrôler le déroulement de la séquence. Trois types de QC, correspondant aux trois grandes matrices organiques analysées, ont été utilisés : du muscle blanc dorsal de chevine, des Gammaridae et de la litière. Les échantillons étant regroupés par séquence suivant le type de matrice organique, un seul type de QC a été analysé par séquence. Après l'analyse d'une séquence, les signaux isotopiques des QC sont examinés : s'il existe un modèle linéaire statistiquement significatif ($p - value < 0,05$)¹⁰ reliant les variations des signaux isotopiques des QC à leur position dans la séquence, cela témoigne d'une dérive des mesures au cours de la séquence d'analyse et on effectue une nouvelle correction transformant δ_{BC} en δ_{DC} avec l'équation suivante :

$$\delta_{DC} = \delta_{BC} - p_{drift} \times pos \quad (1.3)$$

où p_{drift} est le coefficient de régression et pos est la position de l'échantillon dans la séquence.

Enfin, on utilise des standards internationaux pour calibrer le spectromètre de masse par rapport à l'échelle internationale basée sur le Pee Dee Belemnite limestone (V-PDB, $R = 11180, 2 \pm 2, 8 \times 10^{-6}$) pour le carbone, et sur l'azote atmosphérique ($R = 3678, 2 \pm 1, 5 \times 10^{-6}$). À chaque séquence, un standard (IAEA CH-7, International Atomic Energy Agency, Vienna, Austria) pour le carbone et deux standards (IAEA N1 and N2) pour l'azote sont analysés au début et à la fin de la série d'analyses. Comparant les signaux isotopiques théoriques ($\delta^{13}C_{CH-7,T}$, $\delta^{15}N_{N1,T}$ ou $\delta^{15}N_{N2,T}$) des standards avec ceux qui sont mesurés ($\delta^{13}C_{CH-7,M}$, $\delta^{15}N_{N1,M}$ ou $\delta^{15}N_{N2,M}$), on corrige tous les signaux isotopiques de la séquence, de sorte que les signaux mesurés des standards soient égaux aux valeurs théoriques. Pour le carbone on procède à une calibration à un point suivant l'équation suivante :

$$\delta^{13}C_{SC} = \delta^{13}C_{DC} + \delta^{13}C_{CH-7,T} - \delta^{13}C_{CH-7,M} \quad (1.4)$$

et on obtient les signaux isotopiques du carbone ($\delta^{13}C_{SC}$) prêts pour la phase d'exploitation des données. Pour l'azote, on utilise une calibration à deux points suivant l'équation :

$$\delta^{15}N_{SC} = \frac{\delta^{15}N_{N2,T} - \delta^{15}N_{N1,T}}{\delta^{15}N_{N2,M} - \delta^{15}N_{N1,M}} \times (\delta^{15}N_{DC} - \delta^{15}N_{N1,M}) + \delta^{15}N_{N1,T} \quad (1.5)$$

et on obtient les signaux isotopiques de l'azote ($\delta^{15}N_{SC}$) prêts pour la phase d'exploitation des données.

Le spectromètre de masse permet également de déterminer le pourcentage massique de carbone et d'azote contenus dans les échantillons. Cette détermination repose sur une relation linéaire entre l'aire du pic du signal détecté par le spectromètre de masse et la quantité d'élément analysé. Cette relation doit être déterminée à chaque séquence (tous

10. En réalité, lors des séquences analysées il y a pu avoir jusqu'à trois tendances observées et donc trois modèles utilisés : par exemple, une dérive ascendante puis un plateau puis une dérive descendante.

1.4. CORRECTIONS DES SIGNAUX ISOTOPIQUES

les 100 échantillons) en mesurant deux standards (AIEA CH-7 pour le carbone et AIEA N2 pour l'azote), dont on connaît les pourcentages massiques du carbone et de l'azote, à trois masses différentes. Pour économiser du temps, nous avons mesuré les deux standards en même temps (la masse la plus faible de l'un, avec la masse la plus élevée de l'autre, de façon à ne pas avoir un défaut d'O₂). Les trois masses ont été choisies de façon à ce que les aires obtenues couvrent l'étendue des aires mesurées pour les échantillons. Deux régressions linéaires permettent alors d'obtenir les K-facteurs (K_C pour le carbone et K_N pour l'azote) reliant l'aire totale des pics (mesurées aux masses 44, 45 et 46 gmol⁻¹ pour le carbone et aux masses 28, 29 et 30 gmol⁻¹ pour l'azote) à la masse d'élément analysée. On utilise ensuite les équations suivantes :

$$w_C = \frac{AT_{\acute{E}} - AT_{blc}}{K_C \times m_{\acute{E}}} \times 100 \quad (1.6)$$

$$w_N = \frac{AT_{\acute{E}}}{K_N \times m_{\acute{E}}} \times 100 \quad (1.7)$$

pour obtenir le pourcentage massique du carbone (w_C) et de l'azote (w_N), avec $m_{\acute{E}}$ la masse de l'échantillon. À partir de ces pourcentages massiques, on détermine facilement le ratio $C : N$ avec l'équation suivante :

$$C : N = \frac{w_C}{w_N} \times \frac{14}{12} \quad (1.8)$$

Avant de réaliser toutes ces opérations, il convient bien sûr de valider tous les chromatogrammes produits par le spectromètre de masse (figure 1.4) pour s'assurer que le bruit de fond reste stable, que les pulses de références et les pics ont des formes satisfaisantes et que l'intégration automatique se fait correctement. Dans le cas de l'azote, tous les pics des échantillons ont dû être ré-intégrés, car l'intégration automatique n'était pas reproductible entre échantillons. En raison d'un léger épaulement sur le pic d'azote de l'échantillon, dû à un signal parasite provenant de la capsule d'étain, l'intégration automatique positionnait la fin du pic avant ou après l'épaulement, suivant l'échantillon. J'ai donc appliqué une intégration manuelle, déterminant visuellement la fin des pics de la même façon pour tous les échantillons. Même si cet épaulement provenait du « blanc », il ne pouvait pas être corrigé avec l'équation 1.2 car l'amplitude du blanc en azote était beaucoup trop faible pour donner un signal isotopique cohérent.

L'analyse des échantillons QC a aussi permis de déterminer la qualité des analyses effectuées. En particulier, la précision analytique associée aux mesures des signaux isotopiques $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ a été estimée, grâce à l'écart-type des signaux isotopiques de tous les échantillons QC analysés entre Mai 2010 et Novembre 2011. Les valeurs observées (0,15 et 0,21 ‰ pour le carbone et l'azote respectivement) sont conformes aux spécifications données par le fabricant (0,15 ‰). Les analyses et corrections effectuées dans ce travail ont donc permis d'atteindre une bonne précision analytique. Cependant, cette précision reste encore trop limitée pour détecter des différences significatives entre échantillons,

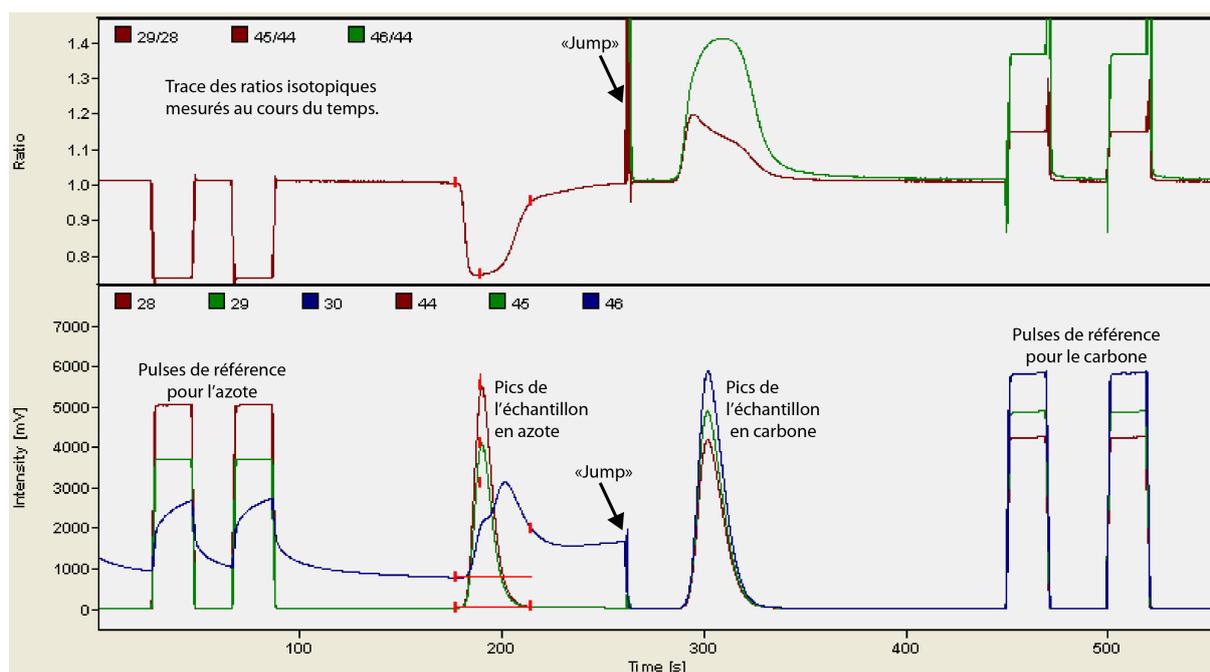


FIGURE 1.4 – Un exemple de chromatogramme produit par le spectromètre de masse après l'analyse d'un échantillon QC. Les signaux en mV décrivent la quantité de molécules détectées par le spectromètre au cours du temps, suivant leurs masses. Le « jump » permet de passer rapidement de la configuration azote à la configuration carbone.

dont les signaux isotopiques sont trop proches (moins de 0,3 ‰). Concernant la détermination des sources de matière organique, cela signifie que les performances des isotopes ne permettent pas de distinguer des sources ayant des signaux isotopiques différant de moins de 0,5 ‰.

Chapitre 2

Utilisation des isotopes stables pour l'étude des réseaux trophiques

2.1 Analyse de duplicats

Après avoir analysé les échantillons et effectué les différentes corrections liées au fonctionnement de l'ensemble analyseur élémentaire/spectromètre de masse, il faut encore s'assurer que les signaux isotopiques sont cohérents et éliminer les éventuelles erreurs ponctuelles qui auraient pu survenir lors de la phase de préparation des échantillons¹. Pour cela, l'ensemble des signaux isotopiques sont projetés dans le plan $\delta^{13}\text{C} - \delta^{15}\text{N}$: la comparaison des signaux isotopiques entre échantillons permet de repérer rapidement les signaux potentiellement aberrants et les échantillons dont il faut recommencer une analyse. D'une part, cette comparaison s'effectue entre les différents échantillons d'un même taxon², et d'autre part, elle s'effectue entre taxons. Par exemple, une nouvelle analyse est effectuée dans le cas où un échantillon s'écarte significativement (au moins 1 ‰) des autres échantillons du même taxon, ou dans le cas où un taxon occupe une position trophique qui ne correspond pas a priori à son régime alimentaire théorique.

Lorsqu'un échantillon a été analysé plusieurs fois, il faut alors choisir entre les différents duplicats du signal isotopique. Les valeurs isotopiques sont alors de nouveau placées dans le plan $\delta^{13}\text{C} - \delta^{15}\text{N}$ (figure 2.1) pour vérifier si le duplicat confirme les analyses initiales. Si les analyses sur les duplicats divergent fortement de celles réalisées initialement et semblent cohérentes avec les signaux isotopiques obtenus pour d'autres échantillons du même taxon, on considère que les valeurs de l'échantillon initial sont erronées. Dans ce cas, les signaux isotopiques du duplicat remplacent ceux de la première analyse. Si les analyses sur duplicats confirment les valeurs isotopiques initiales, alors les

1. Par exemple, contamination de l'échantillon par une autre substance, échange d'échantillons, erreur de pesée, etc.

2. Le terme taxon est utilisé dans cette thèse pour désigner des groupes d'individus appartenant à la même famille, au même genre, ou à la même espèce, suivant le niveau de détermination atteint lors de l'échantillonnage.

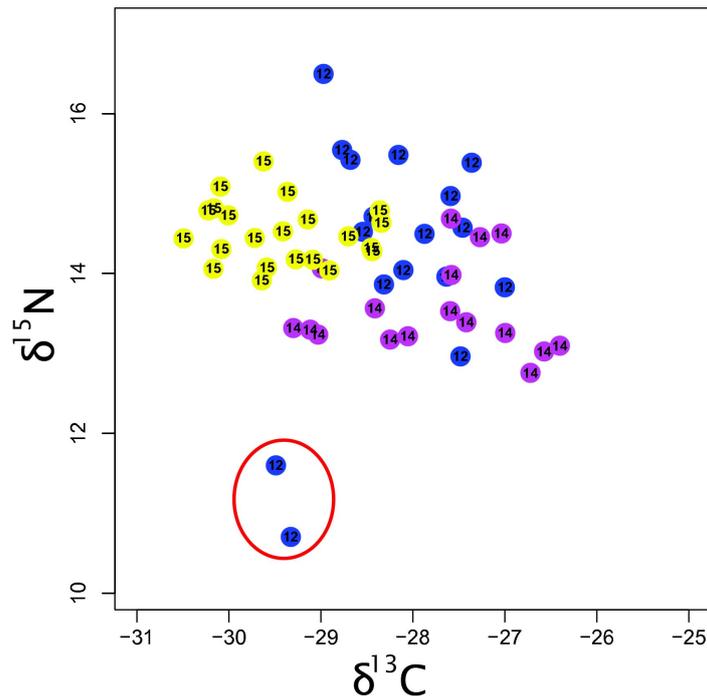


FIGURE 2.1 – Représentation des signaux isotopiques dans le plan $\delta^{13}\text{C} - \delta^{15}\text{N}$ pour examen des duplicats. Ici les signaux isotopiques d’un gardon *Rutilus rutilus* ont nécessité l’analyse d’un deuxième échantillon (points entourés en rouge). Les deux analyses étant similaires, la moyenne des signaux des duplicats servira par la suite pour les calculs liés à l’étude du réseau trophique.

deux valeurs (signaux isotopiques initiaux et duplicat) sont utilisées pour calculer une moyenne, qui remplace le signal initial.

2.2 Correction due aux lipides

Comme le fractionnement entre les isotopes du carbone est différent lors de la synthèse des lipides et des protéines, la teneur en lipide affecte le signal isotopique du carbone (DeNiro & Epstein, 1977). Or, les taux de lipide d’un échantillon varient d’un individu à un autre, et même au sein d’un individu entre différents tissus et suivant sa condition physique (MacConnaughey & McRoy, 1979). Les signaux isotopiques peuvent donc être très différents suivant la teneur en lipide du tissu analysé. Pour éviter ce problème, il est possible d’effectuer un traitement chimique des échantillons avant l’analyse isotopique, pour retirer les lipides. Cependant, cette extraction de lipides affecte également le signal isotopique de l’azote (Sweeting *et al.*, 2006), ce qui oblige à analyser les signaux du carbone et de l’azote séparément. Cette solution n’a donc pas été retenue ; il lui a été préférée une autre solution, qui consiste à procéder d’abord aux analyses isotopiques, et à corriger

ensuite le signal isotopique du carbone en fonction de la teneur en lipides de l'échantillon. Il faut donc déterminer la teneur en lipides des échantillons, ce qui peut se faire de manière approchée, grâce au ratio élémentaire $C : N$ la proportion de carbone étant d'autant plus grande que la teneur en lipide est élevée (Post *et al.*, 2007b). En fait les observations de Post *et al.* (2007b) et Logan *et al.* (2008) ont montré que les différences de signaux isotopiques dues aux lipides n'étaient significatives, qu'à partir d'un taux de lipides égal à 5 %, correspondant à un ratio $C : N$ de 3,5. Utilisant la correction établie par Post *et al.* (2007b) pour les animaux aquatiques (Equation 2.1), j'ai employé le ratio $C : N$ pour corriger les signaux isotopiques du carbone des échantillons d'animaux aquatiques pour lesquels $C : N > 3,5$, suivant l'équation :

$$\delta^{13}C_{lipide} = \delta^{13}C_{SC} - 3,32 + 0,99 \times C : N \quad (2.1)$$

où $\delta^{13}C_{lipide}$ sont les signaux isotopiques corrigés pour les lipides.

2.3 Correction muscle-nageoire

Les signaux isotopiques de différents tissus d'un même organisme ne sont pas identiques, car les tissus ne contiennent pas les mêmes protéines ou encore parce que le « turnover rate » de ces tissus est différent. Traditionnellement, le tissu animal privilégié pour l'analyse des réseaux trophiques, est le muscle, car ce tissu a un lien direct avec l'énergie. Concernant les réseaux trophiques aquatiques, c'est le muscle blanc dorsal qui est échantillonné chez les poissons³ (Pinnegar & Polunin, 1999). Pour des raisons de taille, l'analyse des muscles dorsaux implique le sacrifice des individus pour la plupart des espèces (notamment pour celles du bassin versant de l'Orge) (Hanisch *et al.*, 2010). J'ai donc décidé de privilégier les nageoires, dont le prélèvement n'implique pas le sacrifice des animaux (Sanderson *et al.*, 2009), pour déterminer les signaux isotopiques des poissons. En conséquence, il a fallu au préalable, valider l'emploi des nageoires à la place du muscle, car il existait très peu de travaux de ce type concernant les espèces présentes en Europe, et *a fortiori* sur les cours d'eau que j'ai étudiés. Ce travail a fait l'objet d'une publication (voir l'annexe A). Conformément à d'autres études portant sur des poissons d'Amérique du Nord (Kelly *et al.*, 2006) ou d'Australie (Jardine *et al.*, 2011), cette étude a montré que les signaux isotopiques des nageoires sont différents de ceux des muscles, tant pour le carbone, que pour l'azote. Elle a également permis d'établir des relations linéaires permettant d'estimer, de manière satisfaisante, le signal isotopique du muscle à partir de celui de la nageoire (figure 2.2). Les signaux isotopiques des nageoires ont donc subi une nouvelle correction utilisant les modèles généraux développés dans Hette-Tronquart *et al.* (2012a) :

$$\delta^{13}C_M = 0,82 \times \delta^{13}C_{lipide} - 5,89 \quad (2.2)$$

3. Pour les macroinvertébrés, la masse nécessaire aux analyses isotopiques oblige à analyser les individus entiers ou par pool de plusieurs individus, ce qui rend caduque la question des différences de signaux isotopiques entre tissus.

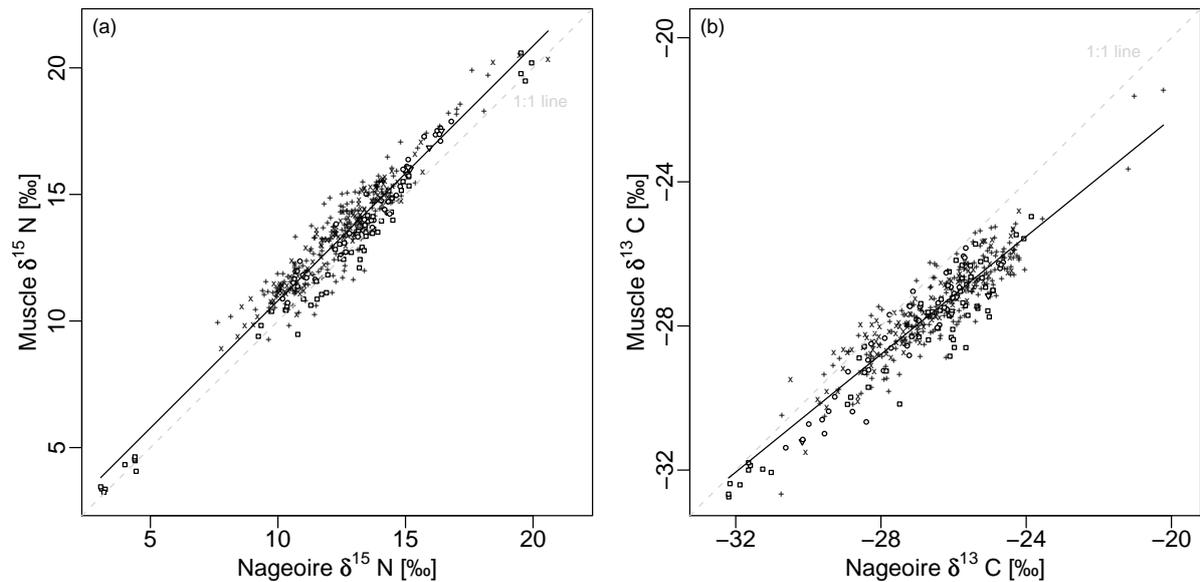


FIGURE 2.2 – Signaux isotopiques des muscles en fonction de ceux des nageoires pour le carbone (a) et pour l’azote (b). Les droites représentent les modèles généraux construits à partir des données.

$$\delta^{15}N_M = 1,01 \times \delta^{15}N_{SC} + 0,74 \quad (2.3)$$

où $\delta^{13}C_M$ et $\delta^{15}N_M$ sont les signaux isotopiques du muscle en carbone et en azote, évalués à partir de ceux de la nageoire.

2.4 Normalisation des données : choix de la ligne de base

Comme expliqué dans l’introduction, le signal isotopique se modifie à chaque niveau trophique : entre un consommateur et sa diète, il y a généralement un enrichissement en isotope le plus lourd. Cet enrichissement s’effectue à partir des sources de matière organique à la base du réseau trophique, et le signal isotopique d’un individu dépend donc des signaux isotopiques des sources de matière organique. Plus les signaux isotopiques des sources de matière organique seront élevés, plus les signaux des membres du réseau trophique seront élevés. Les signaux isotopiques des sources de matière organique étant à la base du réseau trophique, ils sont appelés niveaux de base ou encore lignes de base. Il existe des variations spatiales et temporelles considérables de ces niveaux de base (Cabrera & Rasmussen, 1996 ; Vander Zanden & Rasmussen, 1999). Ainsi, avant de comparer des signaux isotopiques d’individus appartenant à des réseaux trophiques différents, il faut prendre en compte les différences de niveaux de base qui peuvent exister entre ces

réseaux. Dans le cas contraire, les différences observées entre les individus ne seront pas nécessairement le reflet de différences de régime alimentaire, mais simplement de niveau de base différent. Il faut donc normaliser les signaux isotopiques avec les niveaux de base. Pour cela, j'ai déterminé les niveaux de base suivant la méthode proposée par Anderson & Cabana (2007), qui a été développée pour déterminer le niveau de base de l'azote. Selon cette méthode, les sources de matière organique elles-mêmes ne sont pas appropriées pour définir la ligne de base, car leurs signaux isotopiques varient généralement trop rapidement dans le temps et dans l'espace (Finlay, 2004 ; Finlay & Kendall, 2007) : la détermination d'un signal isotopique moyen nécessiterait alors un effort d'échantillonnage beaucoup trop conséquent. Anderson & Cabana (2007) recommandent d'utiliser des consommateurs primaires dont la durée de vie est relativement longue (> 1 an) pour calculer un niveau de base moyen. Pour choisir les taxons à utiliser pour le calcul de la ligne de base, il faut examiner leurs signaux isotopiques. On sélectionne ensuite les taxons qui présentent le signal le plus faible, et qui ont la plus large distribution spatiale (c'est-à-dire qui sont présents sur le maximum de sites étudiés). Leurs signaux isotopiques permettent d'établir les lignes de base du carbone (IB_C) et de l'azote (IB_N) et il reste à normaliser les signaux isotopiques de tous les taxons grâce à ces lignes de base.

$$\delta^{13}C_{LB} = \delta^{13}C_M - IB_C \quad (2.4)$$

$$\delta^{15}N_{LB} = \delta^{15}N_M - IB_N \quad (2.5)$$

où $\delta^{13}C_{LB}$ et $\delta^{15}N_{LB}$ sont les signaux isotopiques normalisés par la ligne de base. La normalisation par les lignes de base est donc nécessaire, lorsque l'on souhaite comparer des signaux isotopiques absolus entre différents réseaux trophiques. Par contre, elle n'est pas obligatoire dans le cas de comparaisons de signaux isotopiques relatifs, comme par exemple dans le cas des distances isotopiques entre taxons. Initialement, le concept de ligne de base a été développé pour le calcul des positions trophiques et ne concernait que les signaux isotopiques de l'azote. La notion de position trophique est en effet une notion universelle dont la valeur doit signifier la même chose quel que soit l'écosystème étudié. Elle nécessite donc de normaliser les signaux isotopiques par rapport à ceux d'un niveau trophique donné (paragraphe 2.5.1, équation 2.6). Cette notion a été étendue aux signaux isotopiques du carbone (Solomon *et al.*, 2008 ; Woodland *et al.*, 2012), même si dans ce cas, il s'agit d'avantage d'une normalisation au cas par cas, sans souci d'une référence absolue comme l'échelle des niveaux trophiques.

2.5 Approche quantitative du réseau trophique

L'utilisation des isotopes stables pour l'étude des réseaux trophiques s'est d'abord traduite par une approche qualitative et descriptive, se fondant sur les positions relatives des taxons dans le plan $\delta^{13}C - \delta^{15}N$ pour déduire la structure et le fonctionnement des réseaux trophiques. Les recherches actuelles emploient toujours cette approche dans une phase d'exploration visuelle des données mais tendent à développer des approches plus

quantitatives, permettant de mesurer les différences et les changements observés (Layman *et al.*, 2011).

2.5.1 Longueur de chaîne trophique

Le concept de chaîne trophique et la limitation de sa longueur existe déjà depuis Elton (1927). Bien que les chaînes trophiques ne soient que des caricatures linéaires des communautés biologiques (Sabo *et al.*, 2009), elles représentent une caractéristique fondamentale des réseaux trophiques (cf. introduction). Traditionnellement, on distingue trois définitions de la longueur de chaîne trophique (FCL) correspondant à trois approches des réseaux trophiques : l'approche par *connectance*, par *interaction*, et par *énergie* (Sabo *et al.*, 2009). L'approche par connectance considère le réseau trophique comme un réseau de toutes les relations trophiques observées ; il est établi par exemple par des études de contenus stomacaux. Avec cette approche, il n'y a aucune considération pour la magnitude des transferts énergétiques s'effectuant suivant ces relations. L'analyse des contenus stomacaux permet typiquement d'estimer la FCL par cette approche. La deuxième approche utilise un réseau trophique décrivant la force des interactions consommateur – ressource. Elle nécessite la plupart du temps des expériences de manipulation contrôlée pour déterminer les interactions. La FCL obtenue est appelée FCL fonctionnelle. La troisième approche repose sur un réseau trophique constitué des relations énergétiques observés (par exemple avec l'analyse des isotopes stables). Elle permet d'obtenir la FCL réalisée ; c'est cette définition que j'ai employée. La FCL réalisée peut également être calculée à partir d'un réseau trophique énergétique totalement décrit, déterminé par des analyses de contenus stomacaux. Cela requiert un investissement considérable en termes d'effort, de temps et d'argent (Sabo *et al.*, 2009) et c'est pourquoi la FCL calculée avec les isotopes stables qui aboutit à des résultats comparables (e.g. Rybczynski *et al.*, 2008), lui est souvent préférée. Historiquement, la FCL est la première métrique développée avec les isotopes stables (Post, 2002a). Le calcul de la FCL avec les isotopes a été conduit suivant la convention du niveau trophique maximal : connaissant les niveaux trophiques des taxons du réseau, la FCL est définie comme étant le niveau trophique maximal atteint sur le réseau. Le calcul du niveau trophique d'un taxon s'obtient à partir du signal isotopique de l'azote uniquement. Il est donné par la différence de signal isotopique existant entre le taxon considéré ($\delta^{15}N_{tax}$) et un autre taxon de référence dont le niveau trophique est connu. La plupart du temps, on utilise la ligne de base comme taxon de référence (Figure 2.3). Le niveau trophique d'un taxon (NT_{tax}) s'obtient alors par l'équation :

$$NT_{tax} = \frac{\delta^{15}N_{tax} - IB_N}{\lambda} + NT_{LB} \quad (2.6)$$

où λ est le fractionnement isotopique existant entre chaque niveau trophique (généralement 3, 4 ‰ (Post, 2002b)) et NT_{LB} est le niveau trophique de la ligne de base.

Les principales sources d'erreur dans le calcul de cette métrique résident donc dans la détermination de la ligne de base, et dans la variabilité du fractionnement isotopique (Vanderklift & Ponsard, 2003 ; Power *et al.*, 2003). Pour tenir compte de ces sources

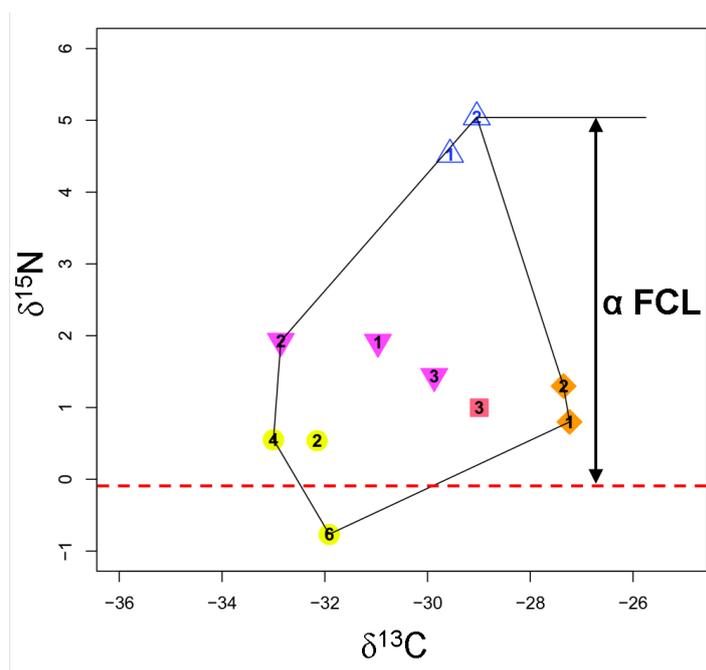


FIGURE 2.3 – Exemple de calcul de FCL. La ligne pointillée rouge symbolise le signal isotopique de la ligne de base. La FCL est proportionnelle à l'écart maximum observé entre la ligne de base et le signal isotopique en azote d'un taxon.

d'erreurs, j'ai donc effectué un test de randomisation, sélectionnant 1000 fois au hasard une valeur de fractionnement isotopique et de signal isotopique de la ligne de base, parmi la distribution connue de ces deux variables. L'écart-type de la distribution obtenue de FCL permet d'établir l'erreur due à ces sources de variation.

2.5.2 Métriques bidimensionnelles du réseau trophique

La FCL est une métrique qui se concentre essentiellement sur la dimension verticale du réseau trophique, intégrant les transferts énergétiques menant au super-prédateur. Plus récemment, de nouvelles métriques utilisant les deux signaux isotopiques du carbone et de l'azote, ont été développées (Layman *et al.*, 2007a). Elles permettent de caractériser la structure et le fonctionnement du réseau trophique selon les deux dimensions du plan $\delta^{13}\text{C} - \delta^{15}\text{N}$: horizontalement, selon la diversité des sources de matière organique utilisées par le réseau trophique et verticalement, selon la richesse des niveaux trophiques. Initialement développées pour décrire la structure et le fonctionnement du réseau trophique dans son ensemble, en les appliquant à un assemblage de taxons, ces métriques peuvent également être utilisées au niveau spécifique pour décrire le positionnement trophique d'une espèce ou d'une population. Les deux premières métriques que j'ai utilisées sont le « carbon range » (CR) et le « nitrate range » (NR), occupés par l'assemblage de taxons ou d'individus, selon le niveau de description (assemblage ou spécifique). CR caractérise la

CHAPITRE 2. ISOTOPES STABLES ET RÉSEAU TROPHIQUE

diversité des sources de matière organique exploitée et NR spécifie l'étendue des niveaux trophiques occupés (figure 2.4). Ils sont donnés par les équations :

$$CR = \max(\delta^{13}C) - \min(\delta^{13}C) \quad (2.7)$$

$$NR = \max(\delta^{15}N) - \min(\delta^{15}N) \quad (2.8)$$

où le maximum et le minimum est pris sur l'ensemble des taxons ou des individus considérés⁴.

J'ai également utilisé l'aire de l'espace isotopique (AITN) du plan $\delta^{13}C - \delta^{15}N$ occupé par l'assemblage de taxons ou d'individus (figure 2.4). Cette métrique a d'abord été utilisée par Layman *et al.* (2007b), qui l'avait dénommée TA pour « total area ». Elle représente la diversité trophique de l'assemblage ou d'une espèce et s'apparente à une mesure de l'aire de la niche trophique. Concrètement, AITN est calculée, comme étant l'aire du polygone convexe contenant tous les signaux isotopiques de l'assemblage. Les deux métriques précédentes offrent une approche voisine mais complémentaire à cette métrique. En effet, CR et NR permettent d'examiner si les variations de AITN proviennent essentiellement de la diversité des niveaux trophiques ou de la richesse des sources de matière organique. Inversement, les variations de CR et NR peuvent ne devenir significatives qu'en se combinant dans AITN.

Après avoir examiné l'espace trophique occupé par les taxons (individus), j'ai aussi considéré la manière dont les taxons (individus) sont répartis dans l'espace trophique. Pour cela on utilise deux métriques : la première est la distance euclidienne moyenne (D) entre les positions trophiques des taxons et la deuxième est le chevauchement moyen ($AITN_{ove}$) de la niche trophique d'un taxon avec les niches des autres taxons. D se calcule à partir des signaux isotopiques moyens des taxons. On calcule les distances entre chaque taxon et on fait la moyenne pour obtenir D. $AITN_{ove}$ se calcule à partir des polygones convexes contenant les signaux isotopiques des individus de chaque taxon. Le chevauchement de la niche d'un taxon est alors égal au ratio entre l'aire du polygone convexe du taxon qui se superpose avec les polygones convexes des autres taxons et l'AITN du taxon (figure 2.5). Le chevauchement moyen est obtenu en faisant la moyenne des chevauchements de chacun des taxons. L'examen conjoint de D et $AITN_{ove}$ permet par exemple, d'évaluer si les variations de l'AITN pour l'assemblage des taxons sont dues aux variations des AITN de chacun des taxons (figure 2.6, mécanisme A), et/ou si elles sont dues à l'espacement trophique des taxons (figure 2.6, mécanisme B). En conséquences, cela permet de conclure entre les deux raisons pouvant expliquer une augmentation de la niche trophique occupée par un assemblage de taxons (Bearhop *et al.*, 2004) : (1) l'assemblage est composé d'espèces généralistes se nourrissant sur une diversité de ressources de plus en plus large (mécanisme A), ou (2) les espèces se spécialisent sur des niches trophiques étroites, mais de plus en plus différentes (mécanisme B).

4. Contrairement à Layman *et al.* (2007a), les signaux isotopiques n'ont pas été moyennés, car cela exclurait de l'analyse les situations caractérisées par une seule espèce.

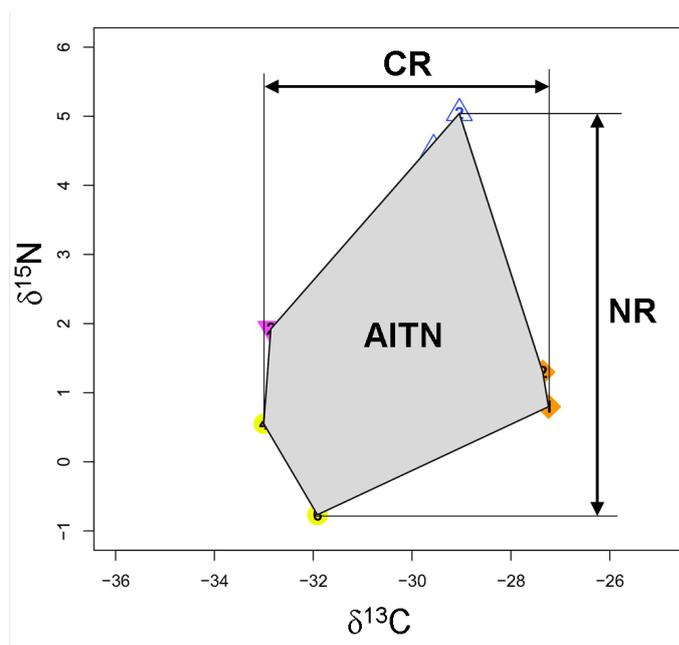


FIGURE 2.4 – Exemple de calcul des métriques CR, NR et AITN sur un assemblage de taxons avec des signaux isotopiques moyennés. AITN est l’aire du polygone convexe contenant tous les signaux, représenté par la surface grise.

Toutes ces métriques décrivant la structure du réseau trophique (CR, NR, AITN, D et $AITN_{ove}$) ne tiennent pas compte de la variabilité des signaux isotopiques des sources de matière organique. Bien que ces métriques fassent intervenir des signaux isotopiques relatifs et non absolus, cela peut conduire à des erreurs (Newsome *et al.*, 2007). En effet, si les signaux isotopiques de deux sources de matière organique sont très similaires sur un cours d’eau mais ne le sont plus sur un autre, les réseaux trophiques de ces deux cours d’eau auront des CR différents, alors qu’ils exploitent les mêmes sources. En fait, il faut bien garder à l’esprit que ces métriques reflètent la structure isotopique des réseaux trophiques. Le plus souvent la structure isotopique est équivalente à la structure en termes de sources de matière organique, mais il peut arriver que les variations observées ne soient qu’isotopiques. Les comparaisons multi-sites à large échelle spatiale, couvrant plusieurs types d’écosystèmes, requièrent donc de s’assurer de la comparabilité des signaux isotopiques des différentes sources de matière organique. Newsome *et al.* (2007) et Hoeninghaus & Zeug (2008) recommandent à ce titre, de rapporter ces métriques à la variabilité des signaux des sources de matière organique. Pour ce faire, ils proposent de transformer l’espace isotopique (« δ -space ») en espace des proportions (« p-space »), où l’axe horizontal ne représente plus les signaux isotopiques du carbone, mais les contributions des différentes sources de matières organiques. Cela permettrait effectivement de s’affranchir des différences d’amplitude des signaux isotopiques des sources de matière organique. Cependant, la détermination des contributions des différentes sources de matière organique

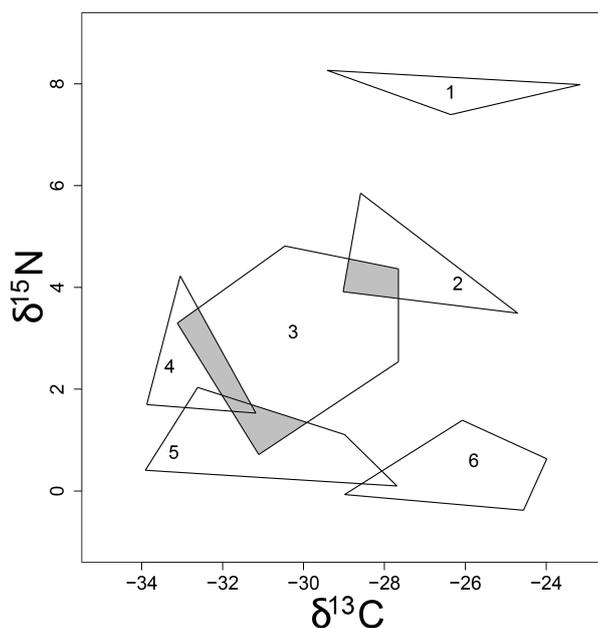


FIGURE 2.5 – Représentation théorique des niches trophiques isotopiques de 6 espèces (polygones convexes 1 à 6). La surface grisée correspond à la surface de la niche de l’espèce 3 occupée par les autres espèces. Avec l’aire totale de la niche trophique 3, elle permet de calculer le chevauchement de niche de l’espèce 3. Le chevauchement de niche de l’espèce 1 avec les autres espèces est nul.

n’est pas toujours possible et dans le cas où l’on dispose de plus de trois sources de matière organique, on ne peut obtenir que des distributions de contributions probables à l’aide d’outils comme les modèles de mélanges (Phillips & Gregg, 2003 ; Parnell *et al.*, 2010). Un temps envisagé, l’utilisation des modèles de mélange n’a pas été réalisée dans le cadre de ce travail.

Enfin, ces métriques sont également très sensibles aux nombres de mesures disponibles par taxon. Par exemple, Jackson *et al.* (2011) ont montré que l’évaluation de la niche trophique d’une espèce présente potentiellement une grande variabilité en dessous de 10 individus pris en compte. Aussi Layman *et al.* (2007a) recommandent-ils de calculer l’aire la niche trophique occupée par un assemblage de taxons avec les signaux isotopiques moyens de chaque taxon, et non avec les signaux individuels. Cependant, cette solution empêche de calculer l’aire de la niche trophique des assemblages constitués de deux taxons et moins, ce qui n’est pas satisfaisant. J’ai donc utilisé les signaux isotopiques individuels mais en adoptant des procédures de randomisation pour prendre en compte cette variabilité. Le détail de ces procédures est décrit dans le deuxième article présenté à l’annexe B, mais le principe consiste à sélectionner au hasard le même nombre d’individus (dans notre cas, 10) sur chaque site étudié et à les répartir suivant les espèces présentes sur le

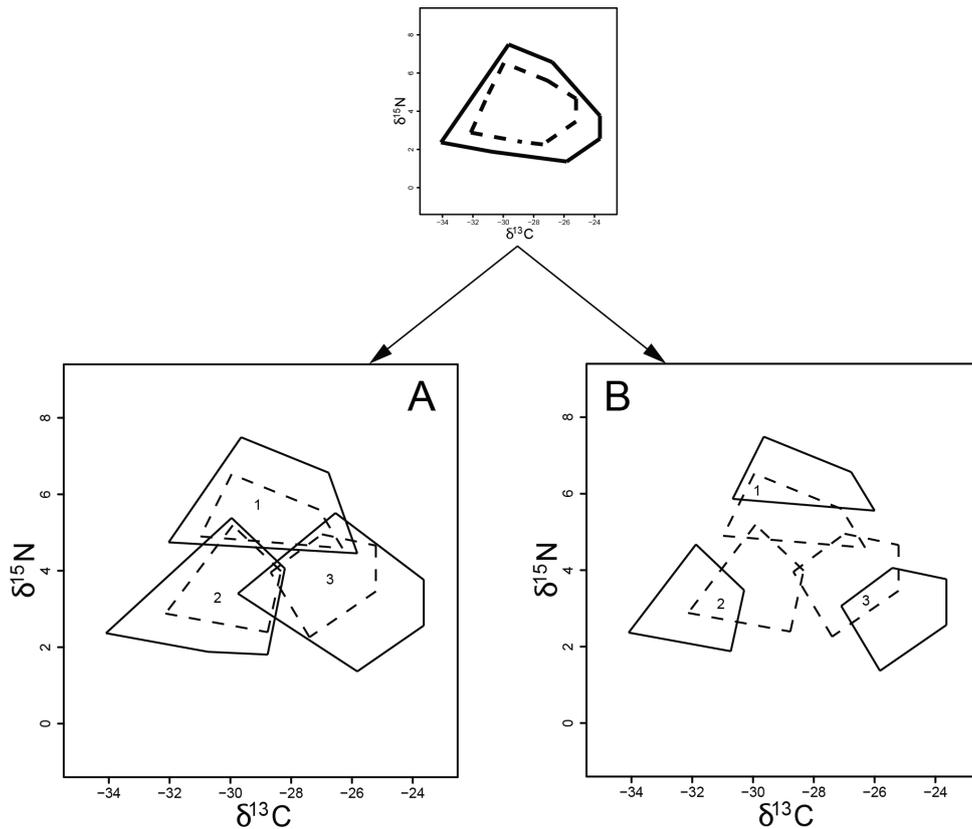


FIGURE 2.6 – Accroissement de la niche trophique occupée par un assemblage de taxons (du polygone en traits pointillés au polygone en traits pleins sur le graphique supérieur). Deux mécanismes sont possibles : mécanisme A, les différentes espèces (1 à 3) augmentent leur propre niche trophique (des polygones en traits pointillés aux polygones en traits pleins) ou mécanisme B, les différentes espèces augmentent les distances trophiques entre elles (des polygones en traits pointillés aux polygones en traits pleins).

site (à raison d'au moins un individu par espèce). Cette procédure permet d'assurer la comparabilité des niches trophiques et d'estimer la variabilité des aires calculées.

2.6 Cohérence des signaux isotopiques

Pour vérifier que les signaux isotopiques et les métriques obtenus suivant la méthodologie décrite ci-dessus étaient cohérents, ils ont été comparés dans un premier temps, à des données issues de la bibliographie. Tout d'abord, les poissons ont été utilisés pour tester si leur position trophique obtenue avec les isotopes stables étaient cohérentes avec leur guildes trophique décrite dans la littérature (Oberdorff *et al.*, 1993, 2002). Dans un second temps, les valeurs de la FCL obtenues pour 21 sites différents ont été comparées aux valeurs couramment observées dans la littérature.

2.6.1 Comparaison des signaux isotopiques de poissons en fonction de leur guildes trophique

Au total, douze espèces de poissons ont été échantillonnées sur le bassin versant de l'Orge. Suivant les données bibliographiques (Oberdorff *et al.*, 1993, 2002) déterminant les guildes trophiques de ces espèces pour la même zone géographique (bassin versant de la Seine), les espèces ont été classées par guildes trophique (herbivore, omnivore, invertivore et piscivore). Les signaux isotopiques ont été normalisés par une ligne de base donnée par les gammares (Gammaridae), suivant la méthodologie décrite à la section 2.4. La distribution des signaux isotopiques obtenus sur les différents sites est représentée par espèce (figure 2.7). Les sources de matière organique exploitées par les poissons semblent changer avec le niveau trophique : plus la position trophique d'une espèce est élevée et moins elle est enrichie en ^{13}C par rapport aux gammares. Cela suggère que le niveau trophique d'une espèce joue sur la nature des sources de matière organique dont elle dépend. Deux espèces s'écartent de cette tendance : *Gasterosteus aculeatus* et *Pungitius pungitus*. Ces différences pourraient s'expliquer par les tissus analysés pour ces espèces, les analyses ayant été réalisées sur poisson entier (voir section 3.3). Plus probablement, ces résultats traduisent une véritable originalité de la niche trophique de ces espèces : leur régime alimentaire est essentiellement constitué de petites proies animales à comportement souvent planctonique, et elles exploitent des habitats rivulaires en général fortement végétalisés, qui sont peu utilisés par les autres espèces. Dans l'ensemble, les niveaux trophiques obtenus avec les isotopes stables sont en accord avec la classification des espèces par guildes trophique : les herbivores/omnivores ont des signaux $\delta^{15}\text{N}$ plus faibles que les invertivores, eux-mêmes ayant des signaux appauvris en $\delta^{15}\text{N}$ par rapport aux espèces à tendance piscivore. On remarque cependant que les signaux isotopiques de *Barbatula barbatula* et *Gobio gobio* sont plus proches des signaux isotopiques des omnivores que des invertivores, ce qui suggère que sur nos sites, ces poissons ont plus tendance à consommer une part significative d'éléments végétaux, que ce qui a été relevé dans d'autres situations par Oberdorff *et al.* (1993, 2002). Les signaux isotopiques obtenus semblent donc en cohérence avec les guildes trophiques décrites dans la littérature. L'usage des isotopes stables se révèle donc très intéressant, car il donne une mesure continue des niveaux trophiques, ce qui permet d'observer toutes les variations de régime alimentaire entre deux guildes différentes (comme par exemple entre une espèce considérée comme herbivore strict, *Rhodeus amarus*, et une espèce considérée invertivore strict, comme *Cottus gobio*).

2.6.2 Comparaison des valeurs de FCL obtenus avec celles observées par Vander Zanden & Fetzer (2007)

Utilisant les valeurs de FCL rapportées par Vander Zanden & Fetzer (2007) dans sa revue bibliographique pour les cours d'eau du monde entier (46 cours d'eau), j'ai examiné la cohérence des valeurs de FCL obtenues avec la méthodologie décrite précédemment (21 cours d'eau). La figure 2.8 compare les distributions obtenues avec les données de Vander Zanden & Fetzer (2007) et avec les données issues de mon travail. Un test non

2.6. COHÉRENCE DES SIGNAUX ISOTOPIQUES

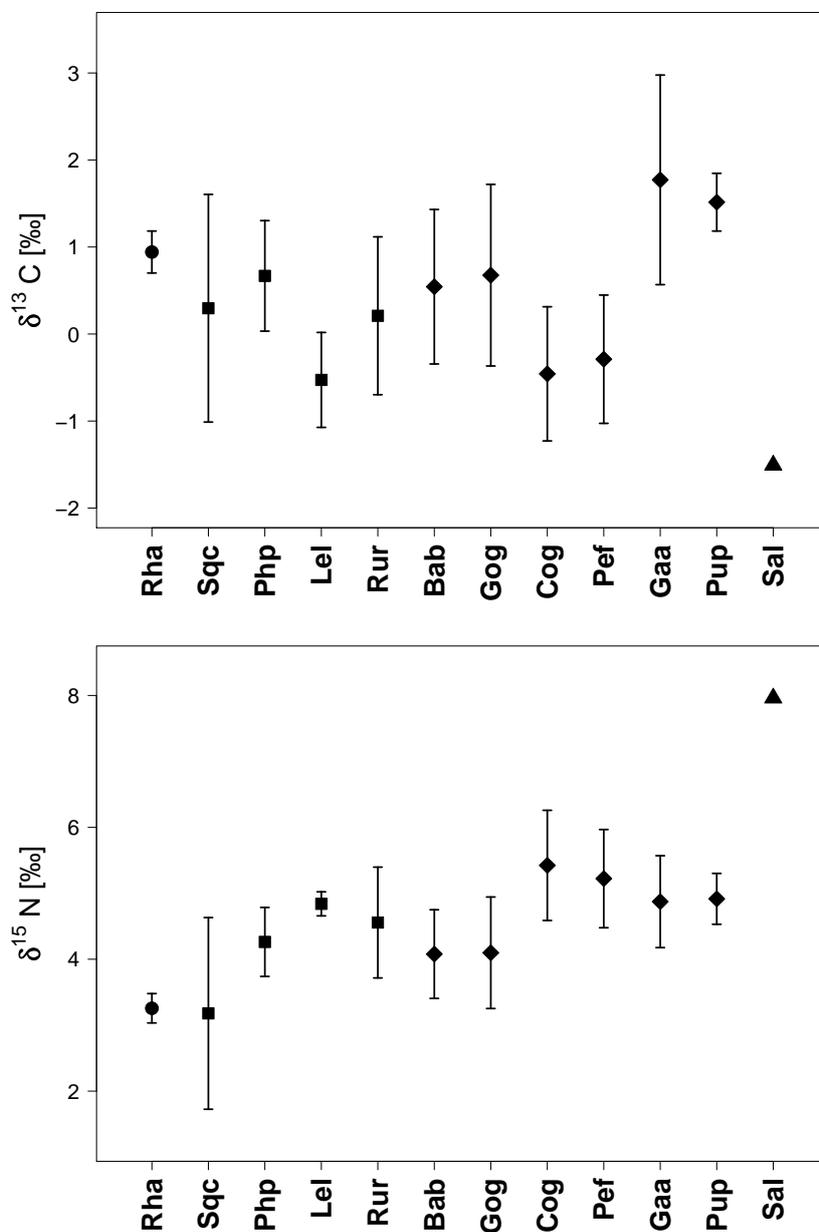


FIGURE 2.7 – Représentation des signaux isotopiques normalisés obtenus pour douze espèces classées en quatre guildes trophiques (● = herbivores, ■ = omnivores, ◆ = invertivores et ▲ = piscivores).

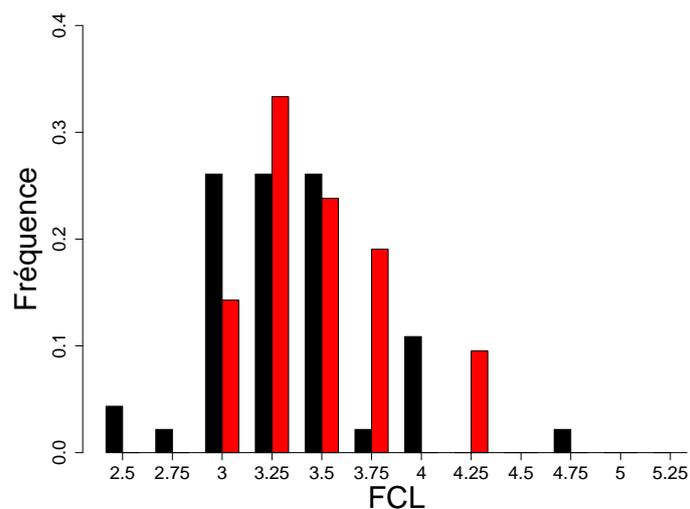


FIGURE 2.8 – Comparaison des FCL de 46 cours d'eau du monde entier (Vander Zanden & Fetzer, 2007) en noir, avec les FCL obtenues sur les bassins versants de l'Orge et du Bez en rouge.

paramétrique de comparaison des moyennes (test de la somme des rangs de Wilcoxon) montre que les données obtenues (FCL = 3,6 en moyenne) ne sont pas significativement différentes des données issues de la bibliographie (3,5 en moyenne).

Chapitre 3

Stratégie d'échantillonnage

Pour pouvoir répondre aux questions posées dans l'introduction, il a fallu échantillonner les réseaux trophiques de différents sites permettant de tester nos hypothèses. Une partie des données utilisées dans cette thèse ont été acquises dans le cadre du projet « Changement global et stratégies démographiques des populations piscicoles » (Programme APR GICC 2005) sur le bassin du Bez (affluent de la Drôme) et ont été mise à ma disposition par l'équipe « écosystèmes d'eaux courantes » d'Irtea Aix en Provence. Le détail des échantillonnages peut être consulté à l'annexe C. L'autre partie des données a été acquise spécialement pour ce travail de thèse en liaison avec le programme PIREN-Seine et concerne le bassin versant de l'Orge (sud de la région parisienne). C'est ce jeu de données qui est plus particulièrement détaillé dans ce chapitre. Le choix des sites, le choix des taxons à échantillonner pour étudier les réseaux trophiques et la méthodologie de conservation et préparation des échantillons ont été déterminés en s'appuyant sur le travail réalisé au préalable par l'équipe « hydroécologie fluviale » d'Irstea Antony (Tales *et al.*, 2007) : celle-ci avait conduit en 2007 et 2008 des études isotopiques sur trois sous-bassins versants de la Seine (Mauldre, Orge et Grand Morin). En 2009, nous avons adopté une approche descriptive simplifiée du réseau trophique, cherchant à décrire l'impact du gradient longitudinal et de l'occupation des sols sur le réseau trophique. Pour cette campagne, le choix du nombre de sites et des compartiments du réseau trophique à étudier a été contraint par le volume d'analyses isotopiques réalisables (environ 2000 analyses). En conséquence, une vingtaine de sites ont été étudiés, sur lesquels l'échantillonnage s'est concentré sur des taxons cibles.

3.1 Description du bassin versant de l'Orge

Pour garantir une certaine homogénéité géologique et hydroclimatique entre les sites étudiés, la zone d'étude devait être limitée à un bassin versant relativement petit. Parmi les possibilités qui m'étaient offertes, mon choix s'est porté sur le bassin versant de l'Orge. L'Orge est un affluent rive gauche de la Seine ; sa confluence est située à Athis-Mons. Le bassin versant de l'Orge occupe une superficie de 936 km² et couvre une partie des départements de l'Essonne et des Yvelines. Le bassin versant de l'Orge est caractérisé

par une forte opposition amont-aval, entre des zones moins urbanisées à l'Ouest (avec le Parc Naturel Régional de la Haute-Vallée de Chevreuse) et au Sud (avec le plateau de Beauce), et des zones fortement urbanisées à l'aval du bassin versant (Mouchel *et al.*, 2007). Le bassin versant de l'Orge offre donc une occupation des sols variée avec des zones urbaines, des boisements encore importants dans le Parc et des zones agricoles sur le plateau de Beauce. La population du bassin est donc essentiellement concentrée dans sa partie aval. Cependant, les communes de la partie aval du bassin sont desservies par un réseau d'assainissement séparatif dont l'exutoire est la station de traitement de Valenton (Mouchel *et al.*, 2007). Les rejets d'eau usées après traitement sont donc essentiellement situés dans la partie amont du bassin versant. En revanche, la partie aval n'est pas exempte des apports par ruissellement urbain pluvial, et par débordements de certaines parties du réseau d'eaux usées par temps de pluie.

Le choix du bassin versant de l'Orge a été établi en fonction d'un compromis entre des critères liés aux objectifs scientifiques de la thèse et des questions pratiques. Parmi les trois bassins versants (Grand Morin, Mauldre et Orge) étudiés par l'équipe HEF en 2007, l'Orge présente le plus large spectre d'espèces piscicoles et le gradient longitudinal le plus étendu. De plus, le bassin de l'Orge est un bassin atelier du PIREN-Seine qui fait donc l'objet d'une attention particulière de la part des chercheurs de ce programme (fonctionnement hydrologique et biogéochimique, suivi de la contamination par les micropolluants, paysage de l'eau en milieu urbain,...). Au niveau de l'occupation des sols, nous avons vu précédemment que le bassin versant de l'Orge présente l'avantage d'une forte différenciation entre zones forestières, agricoles et urbaines. Du point de vue pratique, le bassin versant de l'Orge se situe à proximité du centre Irstea d'Antony, ce qui a permis d'alléger les manipulations de terrain, en réduisant les temps de trajet. Enfin, une collaboration avec le Parc Naturel Régional de la Haute-Vallée de Chevreuse était possible, ce qui m'a permis de bénéficier de l'aide du Parc pour les prélèvements de poissons.

3.2 Sites d'études et occupation des sols

Le choix des sites étudiés a été réalisé avec l'aide des outils Seneque (Ruelland *et al.*, 2007) et AIPreshume (Christophe *et al.*, 2006) développés dans le cadre du PIREN-Seine et qui fournissent des indications spatialisées sur les pressions humaines et sur la qualité de l'eau, ainsi que des données d'occupation des sols fournies par l'Institut d'aménagement et d'urbanisme d'Île-de-France. Initialement, 19 sites ont été choisis en fonction de leur occupation des sols à l'échelle régionale (bassin versant en amont du site) et à l'échelle locale (corridor fluvial), et de leur position le long du gradient longitudinal. Pour échelle régionale, j'ai choisi le bassin versant drainé par le cours d'eau en amont de la station ; pour échelle locale, j'ai utilisé un corridor fluvial défini par une bande de 100 m de large et de 2 km de long, de part et d'autre du cours d'eau en amont immédiat de la station (figure 3.1). Pour le choix de la position des sites sur le bassin versant, l'occupation des sols a

3.2. SITES D'ÉTUDES ET OCCUPATION DES SOLS

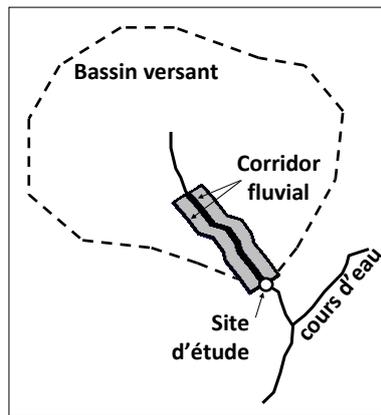


FIGURE 3.1 – Représentation schématique des échelles régionale (bassin versant) et locale (corridor fluvial).

été décrite pour les différents cours d'eau du réseau hydrographique du bassin versant de l'Orge, aux deux échelles, grâce à la couche d'information « MOS 2003, format raster, maille de 25 m » de l'Institut d'aménagement et d'urbanisme d'Île-de-France donnant le mode d'occupation des sols en 48 postes. En plus de ces informations, j'ai également utilisé des données concernant les densités d'habitants, les densités d'UGBN (unité de gros bétails azote), la qualité de l'eau, ainsi que la pente et la largeur des cours d'eau pour réaliser une analyse multivariée en composantes principales. Grâce à cette analyse, j'ai pu classer les différents cours d'eau en trois groupes : F pour les cours d'eau caractéristiques des zones forestières, T pour les cours d'eau caractéristiques des zones agricoles, et U pour les cours d'eau caractéristiques des zones urbaines. 19 sites ont alors été choisis équitablement parmi ces trois groupes (F1 à F7 pour le groupe F, T1 à T6 pour le groupe T et U1 à U6 pour le groupe U) selon leur position sur le gradient longitudinal¹, de façon à obtenir une répartition longitudinale la plus large possible et similaire entre F1-F7 et T1-T6 ou U1-U6 (figure 3.2). Sur le site U2, aucun poisson n'a pu être prélevé ; sur le site U6 l'échantillonnage des poissons a été trop sélectif (peu d'espèces de poissons disponibles pour les analyses isotopiques par rapport au nombre d'espèces présentes sur le site) ; et la position du site T3 s'est révélée trop proche du rejet de la station d'épuration de Vaugrigneuse (moins de 4 km). En conséquence, les réseaux trophiques de ces trois sites n'étaient pas comparables à ceux des autres sites et ils n'ont donc pas été pris en compte pour tester nos hypothèses. Sur les seize sites restants, les proportions des différents modes d'occupation des sols ont été évaluées, utilisant la couche d'information « MOS 2003, format raster, maille de 25 m » de l'Institut d'aménagement et d'urbanisme d'Île-de-France donnant le mode d'occupation des sols en 48 postes. Dans un souci de simplification, ces données ont d'abord été agrégées en trois modes d'occupation (zones forestières : postes 1 à 3, zones agricoles : postes 4 à 8, 10 et 13, et zones urbaines : 11, 12

1. La position sur le gradient longitudinal a été approchée par la largeur du cours d'eau.

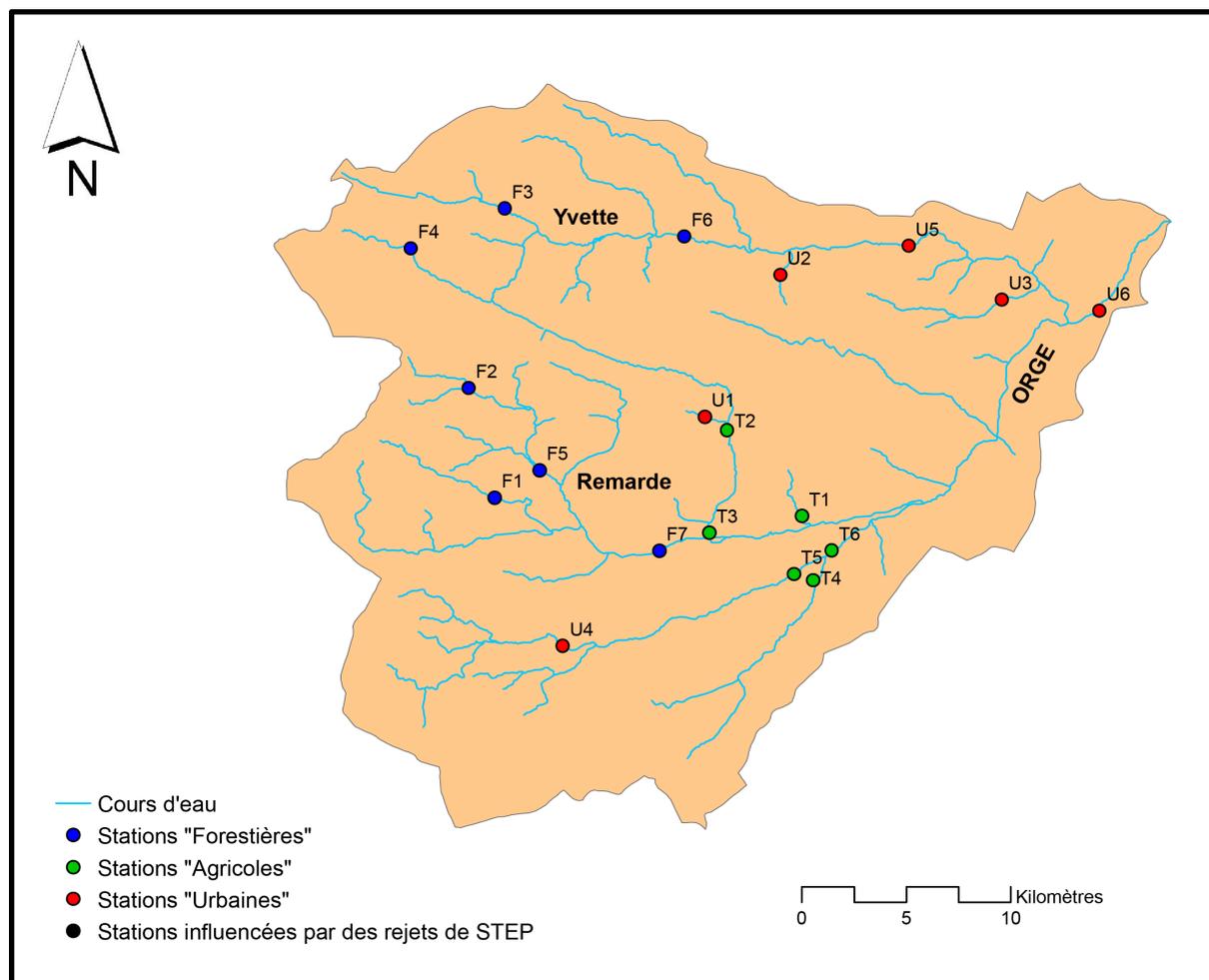


FIGURE 3.2 – Positions de tous les sites échantillonnés sur le bassin versant de l’Orge en 2009, répartis en trois groupes.

et 14 à 48) sans prendre en compte les surfaces en eau. La proportion de ces trois zones a ensuite été calculée à l’échelle régionale, respectivement locale, comme le rapport entre l’aire occupée par la zone considérée et l’aire totale du bassin versant, respectivement du corridor fluvial.

3.3 Prélèvements

Pour pouvoir décrire l’ensemble du réseau trophique, les prélèvements concernent les sources de matière organique à la base du réseau, les macroinvertébrés benthiques et les poissons. Trois sources de matière organique sont échantillonnées : le biofilm représentant la production primaire autochtone, ainsi que les producteurs hétérotrophes aquatiques de la matière organique (bactéries, champignons) ; la matière en suspension, dérivant de

3.3. PRÉLÈVEMENTS

l'amont du cours d'eau ; et la litière représentant la matière organique particulaire grossière terrestre en décomposition (feuilles mortes). Trois échantillons indépendants de biofilm ont été récupérés à la brosse à dents sur trois carrelages disposés un mois plus tôt dans les cours d'eau. Trois échantillons de matière en suspension ont été obtenus en filtrant (\varnothing 500 μ m) trois prélèvements d'eau du cours d'eau. Enfin trois échantillons de litière ont été collectés, en ramassant des feuilles mortes tombées dans le cours d'eau.

Le prélèvement des macroinvertébrés s'est concentré sur l'échantillonnage de 5 taxons cibles fréquemment rencontrés sur l'ensemble des sites, et représentant chacun une guilda trophique différente. Il s'agissait d'un taxon « éphémère » (Baetidae, herbivores brouteur), d'un taxon « trichoptère à fourreau » (Hydrophysichidae, filtreur passif), d'un taxon « bivalve » (Sphaeriidae, filtreur actif), d'un taxon « crustacé » (Gammaridae, broyeur déchiqueteur) et d'un taxon « zygoptère » (Calopterygidae, prédateur actif). Durant l'été 2009, les prélèvements ont été effectués à l'aide d'un filet *Surber* dans les habitats favorables à chacun de ces taxons, de façon à récolter suffisamment d'individus pour pouvoir réaliser au moins trois analyses isotopiques. Le tableau 3.1 présente le nombre d'échantillons récoltés par taxon.

TABLEAU 3.1 – Nombre d'échantillons obtenus pour chaque taxons cibles des macroinvertébrés benthiques (1 : *Baetis* sp. ; 2 : *Hydrophysichidae* ; 3 : *Sphaeriidae* ; 4 : *Gammaridae* ; 5 : *Calopterygidae*). Le nombre d'individus collectés est donné entre parenthèse.

cible	Stations															
	« forestières »							« agricoles »					« urbaines »			
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	T1	T2	T4	T5	T6	U1	U3	U4	U5
1	(113) 1	(11) 1	(54) 1	(90) 1	(52) 1	(27) 1	(69) 3	(102) 2	(159) 1	(61) 2	(130) 3	(122) 2	(80) 1	(60) 1	(63) 2	(80) 1
2	(16) 3	(0) 0	(18) 3	(12) 3	(0) 0	(13) 3	(12) 3	(5) 3	(5) 2	(3) 3	(8) 3	(1) 1	(1) 1	(16) 3	(0) 0	(12) 3
3	(92) 0	(58) 1	(55) 3	(40) 1	(7) 1	(34) 3	(12) 2	(16) 3	(36) 3	(35) 2	(56) 3	(43) 3	(0) 0	(2) 0	(32) 2	(8) 2
4	(78) 3	(40) 3	(57) 3	(50) 3	(?) 3	(42) 3	(30) 3	(73) 3	(44) 3	(38) 3	(33) 3	(50) 3	(73) 3	(55) 3	(51) 3	(21) 3
5	(0) 0	(0) 0	(3) 3	(7) 3	(3) 3	(3) 3	(4) 3	(6) 3	(3) 3	(0) 0	(3) 3	(4) 3	(4) 3	(2) 2	(3) 3	(3) 3

L'échantillonnage des peuplements de poissons a été effectué par pêche électrique en continu. Un seul passage a été réalisé sur une section représentant 10 à 20 fois la largeur du cours d'eau sur chaque site et en veillant à prospecter les principaux habitats disponibles (échantillonnages des mouilles et radiers, lorsqu'ils sont présents). Tous les poissons capturés ont été identifiés à l'espèce et leur longueur totale mesurée, dans le but de pouvoir estimer la biomasse présente sur la station. Sur un des sites (F7), une truite arc-en-ciel (*Onchorhynchus mykiss*), provenant d'un lâcher destiné à la pêche amateur, a été écartée des analyses. Les prélèvements isotopiques sont effectués en priorité sur les nageoires pour éviter le sacrifice des poissons. Les prélèvements pour analyses isotopiques concernent les espèces, dont la présence lors du prélèvement est jugée significative. Ainsi les espèces représentées seulement par un faible effectif d'individus juvéniles n'ont-elles pas fait l'objet d'analyses. Lorsque cela était possible, cinq individus par espèce ont été prélevés pour obtenir une estimation plus fiable des signaux isotopiques, compte tenu de la variabilité individuelle observée lors des études de 2007 et 2008. Pour chaque espèce, les individus prélevés appartiennent, dans la mesure du possible, à la même gamme de tailles pour tous les sites. Ces gammes de tailles correspondent aux tailles d'individus adultes les plus couramment observées chez chacune des espèces. Ce choix a été fait pour limiter l'influence des modifications ontogéniques du régime alimentaire sur les signaux isotopiques des espèces. La loche franche (*Barbatula barbatula*) a constitué l'espèce cible pour les poissons, car les études de 2007 et 2008 ont révélé que c'était l'espèce la plus fréquemment capturée sur le bassin versant de l'Orge. En ce qui la concerne, le maximum d'individus a été prélevé avec une limite supérieure de 30 poissons, pour accéder à la variabilité inter-individuelle des signaux isotopiques. En complément, des échantillons de muscles blancs dorsaux ont été prélevés sur une partie des poissons dont les nageoires ont été échantillonnées. Les signaux isotopiques de ces muscles avec ceux des nageoires correspondantes ont permis d'établir les relations muscles-nageoires nécessaires aux corrections décrites précédemment dans la section 2.3. Deux espèces de poissons avaient des nageoires trop petites pour pouvoir analyser leurs signaux isotopiques. Il s'agit des épinoches (*Gasterosteus aculeatus*) et des épinochettes (*Pungitius pungitius*). Pour ces deux espèces, les poissons analysés ont été sacrifiés, éviscérés et étêtés. Les signaux isotopiques de ces deux espèces proviennent donc d'un échantillon composite, constitué majoritairement de tissus musculaires, mais comportant également de la peau, des nageoires et des arrêtes.

3.4 Conservation et Préparation des échantillons

Tous les échantillons ont été rincés au laboratoire à l'eau distillée. Ils ont ensuite été conservés à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ en attendant d'être lyophilisé à $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, puis placés au dessiccateur. Afin d'obtenir suffisamment de masse sèche pour une analyse isotopique, les individus trop petits sont rassemblés en trois lots indépendants, avant d'être broyés comme le reste des échantillons² avec un broyeur mécanique à billes (broyeur vibrant Retsch MM400). L'utilisation du broyeur permet d'obtenir rapidement une poudre homogène (« isotopi-

2. À l'exception des échantillons filtrés (matière en suspension et biofilm) qui sont pesés directement.

3.4. CONSERVATION ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

quement » parlant), à partir des échantillons dont les différents tissus peuvent avoir des signaux isotopiques variables (c'est le cas en particulier des macroinvertébrés). Cependant le broyage requiert au minimum 8 mg de masse sèche, car en-dessous de cette quantité, le broyat n'est pas récupérable. En conséquence, les échantillons pour lesquels cette masse n'était pas disponible, n'ont pas été broyés. Enfin les échantillons ont été pesés dans des nacelles d'étain suivant la masse déterminée pour obtenir des analyses isotopiques optimales (voir section 1.4) à $\pm 10 \mu\text{g}$. Pour les échantillons non broyés, cette précision était beaucoup plus difficile à atteindre, car les individus sont ajoutés un par un, jusqu'à s'approcher le plus possible de la masse désirée.

Au total, 2340 analyses isotopiques ont été menées pour 1665 échantillons.

Deuxième partie

Déterminants du réseau trophique aquatique

Chapitre 4

Modification de l'aire de niche trophique le long du gradient longitudinal

4.1 Problématique

Les propriétés physiques des cours d'eau (largeur, profondeur, pente, vitesse) changent de l'amont à l'aval (Amoros & Petts, 1993). Ces modifications entraînent des changements progressifs des peuplements faunistiques liés aux contraintes du milieu (nature du substrat, vitesse du courant, oxygénation, température, ...), à la disponibilité des ressources (« river continuum concept » Vannote *et al.*, 1980) et à l'hétérogénéité temporelle et spatiale des habitats (« river habitat templet » Townsend & Hildrew, 1994). Il y a donc tout lieu de penser que le fonctionnement des cours d'eau change aussi le long du gradient longitudinal de conditions écologiques, en accord avec les changements de communautés biologiques. Par exemple, le fonctionnement trophique peut être modifié ; Oberdorff *et al.* (1993), pour les milieux tempérés, et Ibañez *et al.* (2007), pour les milieux tropicaux, rapportent une évolution des guildes trophiques piscicoles, passant d'une prédominance des poissons invertivores à l'amont, à une domination des guildes omnivores et piscivores à l'aval. Cependant l'impact du gradient longitudinal sur le réseau trophique reste peu étudié (Power & Dietrich, 2002). En particulier, alors qu'il existe une convergence à l'échelle de quatre continents montrant que la richesse spécifique piscicole augmente le long du gradient longitudinal (Ibañez *et al.*, 2009 ; Winemiller *et al.*, 2011) et que la richesse spécifique est souvent avancée pour expliquer les effets des causes ultimes sur le réseau trophique (Post & Takimoto, 2007), les effets croisés du gradient et de la richesse spécifique sur le réseau trophique n'ont, à ma connaissance, jamais été évalués.

Étant donné son rôle structurant, l'étude du gradient longitudinal semble au contraire être un prérequis à toutes les études portant sur les écosystèmes lotiques. Il est en effet nécessaire de quantifier son influence au préalable, sous peine de confondre les effets d'autres déterminants écologiques. Au cours de mes travaux, j'ai donc testé l'in-

fluence du gradient sur l'organisation des réseaux trophiques, en examinant s'il agissait directement ou indirectement, par l'intermédiaire de la richesse spécifique. De plus, l'effet de la biomasse a été intégré à ce modèle, car la biomasse est supposée être positivement liée à la richesse spécifique (Schwartz *et al.*, 2000). Pour répondre à cette question, l'écosystème échantillonné a été limité au compartiment piscicole, celui-ci représentant une partie substantielle des réseaux trophiques lotiques (cf. article de l'annexe B). L'effet du gradient (UDG) a été examiné par l'intermédiaire de l'aire de la niche trophique occupée par les poissons (AITN), calculée à partir des analyses isotopiques (voir section 2.5.2). Il est attendu que le gradient influence positivement l'aire de la niche trophique. Quatre scénarios sont alors possibles : le premier correspond à un effet direct du gradient longitudinal, le deuxième correspond à un effet indirect par le biais de la richesse spécifique, le troisième correspond à un effet indirect par le biais de la biomasse et le quatrième correspond à un effet doublement indirect par l'intermédiaire de la richesse spécifique, agissant par le biais de la biomasse.

4.2 Résultats et discussion

4.2.1 Peuplement de poissons

L'évolution du peuplement de poissons le long du gradient longitudinal montre une augmentation de la richesse spécifique ($p - value < 0,001$, $R^2 = 0,70$), en accord avec Oberdorff *et al.* (1993). Ce premier résultat justifie notre démarche et confirme que le test de l'effet indirect du gradient par le biais de la richesse spécifique est pertinent. L'étude de l'évolution des guildes trophiques de l'amont à l'aval des cours d'eau précise que cette augmentation de richesse est principalement due à l'apparition d'espèces omnivores (figure 4.1). La proportion des espèces invertivores est négativement corrélée à la proportion d'espèces omnivores ($\rho = -1$, méthode de Spearman) et décroît le long du gradient (figure 4.1). Ceci est en accord avec les modifications couramment observées (e.g. Oberdorff *et al.*, 1993), même si le gradient longitudinal considéré n'est pas assez étendu pour aboutir à une prédominance des espèces omnivores et à l'apparition des espèces piscivores. En revanche, il n'y a pas de modèle significatif entre le gradient longitudinal et la biomasse. De même la richesse spécifique et la biomasse ne sont pas reliées (figure 4.2). Ces résultats sont surprenants même si Ibañez *et al.* (2009) relèvent qu'il n'existe pas forcément de patron de variation entre la densité d'individus et le gradient longitudinal. Cependant l'absence de relation linéaire entre la richesse spécifique et la biomasse (figure 4.2) suggère que les sites étudiés se trouvent en situation de saturation partielle, c'est-à-dire ne disposent pas d'assez d'énergie pour que l'apparition d'une nouvelle espèce se traduise en une augmentation de biomasse (Oberdorff *et al.*, 1998). Dans le cas inverse, la biomasse devrait augmenter avec la richesse spécifique.

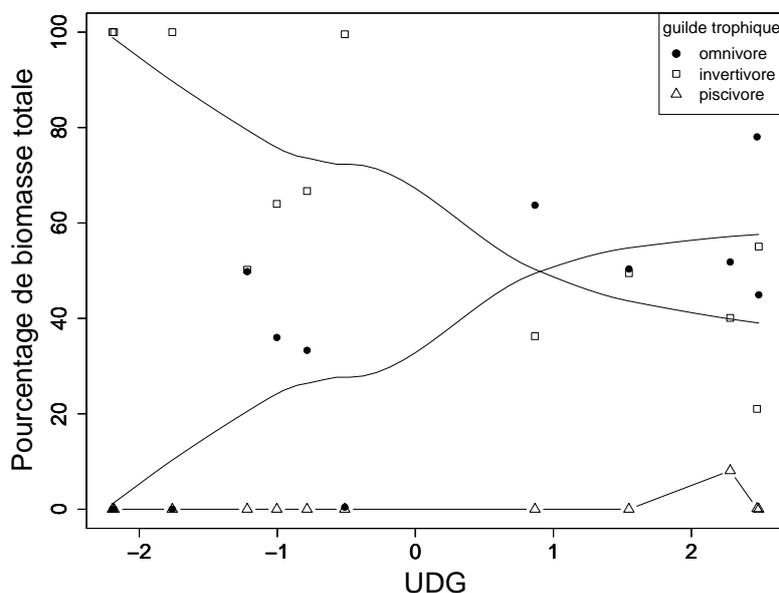


FIGURE 4.1 – Évolution de la proportion des guides trophiques le long du gradient longitudinal. La proportion est calculée comme la rapport entre la biomasse de la guildes considérée et la biomasse totale du peuplement de poisson.

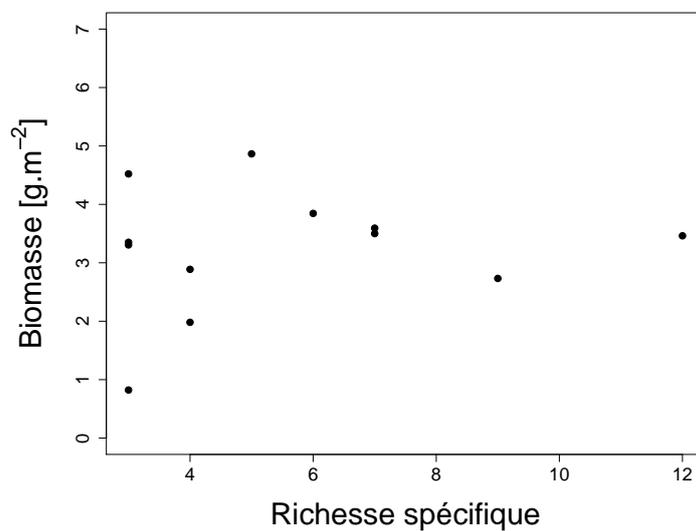


FIGURE 4.2 – Étude de la relation entre biomasse et richesse spécifique du peuplement de poissons.

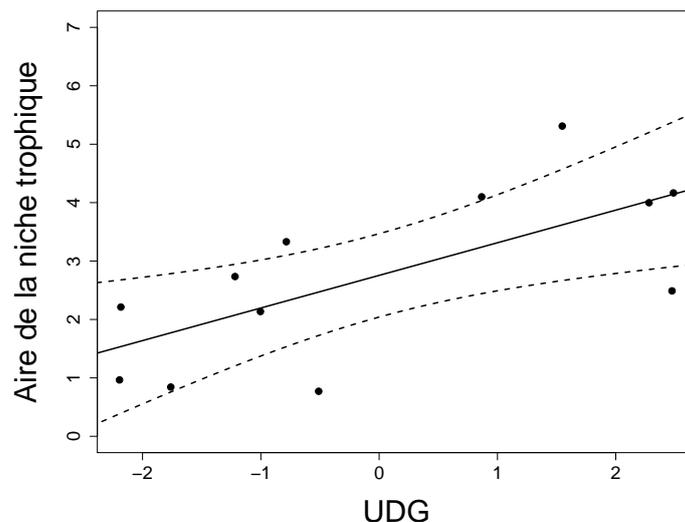


FIGURE 4.3 – Effet total du gradient longitudinal (estimé avec le premier axe d’une analyse en composantes principales portant sur la largeur, l’aire du bassin versant amont, la distance à la source et la hauteur d’eau) sur l’aire de la niche trophique de l’écosystème. Le modèle linéaire est représenté par la droite et son intervalle de confiance à 95 % est donné par les lignes en pointillés.

4.2.2 Analyse au niveau du peuplement de poissons

Conformément à nos attentes, l’aire de la niche trophique occupée par les poissons augmente significativement le long du gradient longitudinal (p -value = 0,012, $R^2 = 0,48$, figure 4.3). En effet, la disponibilité de la ressource, la stabilité et la taille de l’écosystème augmentent de l’amont à l’aval des cours d’eau. Or, ces trois causes ultimes de variation du réseau trophique peuvent expliquer l’augmentation de l’aire de la niche trophique. D’après les résultats de la « path analysis », les scénarios un et deux sont significatifs : le gradient influence directement l’aire de la niche trophique de façon positive, tandis qu’il l’influence négativement par l’intermédiaire de la richesse spécifique. Le premier effet compense largement le second pour aboutir à un effet total positif (figure 4.4).

Le premier scénario est bien conforme à nos attentes. Il correspond à un effet du gradient longitudinal se déroulant à richesse spécifique et biomasse constante. Dans ce cas, l’augmentation de l’aire de la niche trophique ne peut pas s’expliquer par l’addition ou l’insertion de nouveaux individus dans le réseau. Parmi les causes immédiates, seul le mécanisme d’omnivorie¹ peut s’appliquer et la modification de l’aire de niche résulte de

1. La terminologie employée pour les causes immédiates est celle de Post & Takimoto (2007). Il faut entendre par mécanisme d’omnivorie tout mécanisme modifiant le régime alimentaire d’un taxon/d’une espèce. Cela ne présage pas la nature de cette modification et le mécanisme d’omnivorie peut donc correspondre à la spécialisation d’une espèce sur une niche trophique étroite.

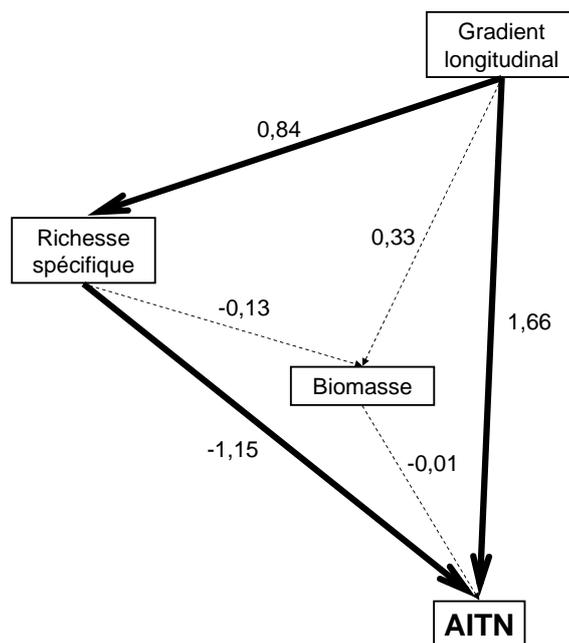


FIGURE 4.4 – Résultat de la « path analysis » liant le gradient longitudinal à l'aire de la niche trophique (AITN). Les coefficients sont inscrits à côté des chemins correspondants. Les traits pleins indiquent les chemins significatifs, à l'inverse des traits pointillés.

la diversification des régimes alimentaires. Concernant les causes ultimes, l'augmentation de la *disponibilité des ressources* avec le gradient ne semble pas pouvoir être avancée, car dans le cas d'un accroissement de l'énergie disponible, la biomasse ou la richesse spécifique augmenterait également. Ceci est incompatible avec le premier scénario qui se déroule à richesse spécifique et biomasse constante. En revanche, une plus grande *stabilité de l'écosystème* pour les milieux aval peut expliquer cette relation. En effet, une diminution des perturbations réduit le stress auquel sont soumis les poissons, ce qui leur permet d'adopter des comportements alimentaires plus proches de leur stratégie optimale de recherche de nourriture (théorie de l'« optimal foraging strategy » développée par MacArthur & Pianka, 1966). Chaque espèce ayant une stratégie qui lui est propre, cette modification des régimes alimentaires des poissons aboutirait à une plus grande diversité des comportements trophiques et augmenterait donc l'aire de la niche trophique. La *taille de l'écosystème* peut également être invoquée pour expliquer l'accroissement de l'aire de la niche à biomasse et richesse spécifique constante. À l'aval, les cours d'eau offrent une plus grande hétérogénéité de l'habitat (Ibañez *et al.*, 2009). Cela n'entraîne pas forcément une augmentation de la disponibilité des ressources en termes quantitatif, mais offre une plus grande variabilité des sources de matière organique. Grâce à ces nouvelles sources, les poissons diversifieraient leur régime alimentaire ce qui augmenterait l'aire de la niche trophique.

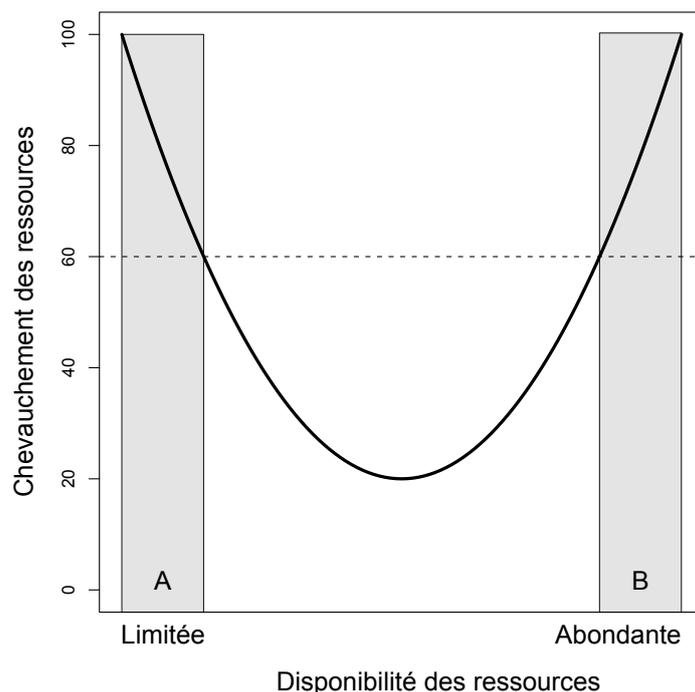


FIGURE 4.5 – Pourcentage de chevauchement des ressources exploitées en fonction de leur disponibilité. D’après Matthews (1998, , p459).

Le deuxième scénario est plus inattendu, car il montre une diminution de l’aire de la niche avec l’augmentation de la richesse spécifique, à position constante sur le gradient longitudinal. Or, une augmentation de la richesse spécifique, qui peut être due à l’apparition d’espèces écologiquement différentes ou similaires, est généralement associée à une diversification des positions trophiques (Cohen & Newman, 1991). Le cas de l’implantation d’espèces différentes conduit trivialement à l’augmentation de l’aire de la niche, mais cela peut aussi être le cas avec des espèces similaires. Selon le concept de « ressource partitioning » ou de « ségrégation de niche », deux espèces ne peuvent coexister que si elles occupent des niches différentes (principe d’exclusion de Gause, Gause, 1934 ; Mason *et al.*, 2008). C’est en particulier vrai pour la niche trophique. Ainsi, même l’apparition d’espèces similaires conduit théoriquement à un accroissement de la niche trophique. Le principe de saturation fonctionnelle (Schwartz *et al.*, 2000 ; Carey & Wahl, 2011) rapporte cependant qu’une diversité fonctionnelle élevée peut déjà être atteinte par un nombre limité d’espèces, rendant l’apparition de nouvelles espèces fonctionnellement redondant. Dans notre cas, l’augmentation de la richesse spécifique est principalement due à l’apparition d’espèces omnivores qui sont effectivement redondantes, mais cela ne suffit pas à expliquer pourquoi la diversité trophique diminue. L’augmentation de la richesse spécifique seule ne peut donc pas expliquer la diminution de l’aire de niche trophique observée et cela m’a conduit à examiner les causes potentielles de l’augmentation de la richesse spécifique.

Deux phénomènes principaux peuvent expliquer l'augmentation de la richesse spécifique : l'habitat et l'accroissement de la quantité de ressources disponibles. L'habitat peut favoriser l'apparition de nouvelles espèces par sa taille et par sa diversité (Barbour & Brown, 1974). Cependant, le deuxième scénario se déroulant à position constante sur le gradient, la taille de l'habitat est aussi constante et ne peut pas être invoquée ici. De même, la diversité de l'habitat entraînerait une diversification des ressources disponibles, qui serait alors certainement exploitées par les poissons invertébrés et omnivores, majoritaires sur nos sites (figure 4.1) et augmenterait l'aire de la niche. L'habitat ne semble donc pas être responsable de l'augmentation de la richesse spécifique. En revanche, la quantité de ressources disponibles est positivement corrélée à la richesse spécifique (Oberdorff *et al.*, 1995 ; Hoeinghaus *et al.*, 2007), et dans notre situation, à position donnée sur le gradient, les fortes richesses en espèces pourraient s'expliquer par une plus forte disponibilité des ressources. Dans ce cas, deux situations pourraient correspondre à une diminution de l'aire de la niche trophique (figure 4.5) : soit les ressources disponibles deviennent très abondantes et à partir d'une certaine quantité, toutes les espèces peuvent exploiter les mêmes ressources sans entrer en compétition (situation B de la courbe), soit les ressources sont limitées et les espèces sont toutes obligées d'exploiter les mêmes ressources (situation A de la courbe). La première situation s'appuie sur la théorie de l'« optimal foraging strategy », selon laquelle une espèce adapte son régime alimentaire pour récupérer le plus possible d'énergie. Il y a donc un optimum à trouver entre la valeur nutritive de la proie et le temps et l'énergie qu'il faut dépenser pour se la procurer. Lorsque les ressources ne sont pas très abondantes, les espèces ont plus intérêt à se spécialiser pour éviter la compétition et pour se concentrer sur la nourriture qui leur fournit le maximum d'énergie. Inversement, si une ressource devient extrêmement abondante, elle constituera un stock d'énergie très facilement exploitable et toutes les espèces auront tendance à l'utiliser, même si elle ne leur fournit pas la même quantité d'énergie (la quantité compense la qualité). Dans ce cas, l'augmentation de la quantité de ressources accroît la richesse spécifique, mais diminue l'aire de la niche trophique. Cela pourrait expliquer le deuxième scénario, cependant, l'absence de relation entre richesse spécifique et biomasse suggère que les sites étudiés sont partiellement saturés : ils peuvent certes héberger plus d'espèces, mais à biomasse constante car l'énergie est limitée. La première situation ne peut donc pas s'appliquer. En revanche la deuxième situation correspondrait au phénomène observé. Selon cette hypothèse, la richesse spécifique augmenterait plus rapidement que la quantité de ressources disponibles, ce qui conduirait donc à une saturation partielle et à une limitation de la biomasse. De plus, ayant peu de ressources disponibles, les espèces seraient de plus en plus obligées de se nourrir sur les mêmes sources de matière organique, au fur et à mesure que leur nombre augmenterait. Il en résulterait une diminution de l'aire de la niche trophique. Selon nous, ce n'est donc pas la richesse spécifique seule qui a un effet négatif sur l'aire de la niche trophique, mais la combinaison de deux facteurs : la richesse et la quantité d'énergie disponible. La relation observée serait donc la conséquence d'une augmentation du nombre d'espèces plus rapide que l'augmentation des ressources disponibles.

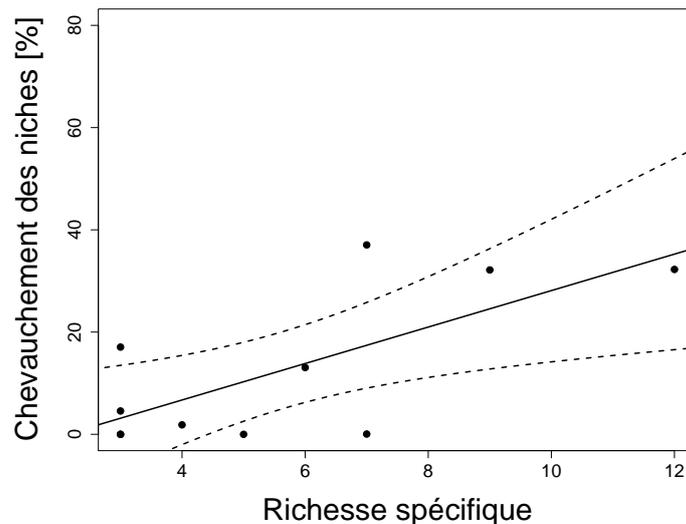


FIGURE 4.6 – Relation entre la richesse spécifique et le chevauchement moyen de la niche d’une espèce avec les niches des autres espèces. Le modèle linéaire (p – $value = 0,015$, $R^2 = 0,50$) est représenté par la droite et son intervalle de confiance à 95 % est donné par les lignes en pointillés.

Excepté la *disponibilité des ressources*, les causes ultimes (*stabilité* et *taille de l’écosystème*) ne semblent pas pouvoir expliquer la relation négative entre richesse spécifique et aire de la niche trophique. Comme je l’ai souligné plus haut, une plus grande stabilité peut certes conduire à une plus grande richesse spécifique, mais elle entraînerait également une plus grande diversité des régimes alimentaires et donc un accroissement de la niche trophique. L’effet de la taille ne peut pas être testé ici, car la taille et la position sur le gradient longitudinal sont trop corrélées ($\rho = 0,93$, méthode de Spearman) et on raisonne ici à position fixe sur le gradient. Concernant les causes immédiates, il y a bien addition ou insertion de nouvelles espèces dans le réseau trophique lorsque la richesse spécifique augmente. A priori, ces mécanismes ont tendance à augmenter l’aire de la niche trophique, plutôt qu’à la diminuer. Ce serait donc le mécanisme d’omnivorie et du changement de régime alimentaire qui expliquerait cette diminution.

4.2.3 Analyse au niveau spécifique

Mécaniquement, l’augmentation de l’aire de la niche trophique, due à l’effet direct du gradient longitudinal, ou sa diminution, en raison de l’effet indirect via l’abondance des ressources et la richesse spécifique, peut résulter de deux mécanismes (figure 2.6, Bearhop *et al.*, 2004). D’une part, l’élargissement de la niche trophique de chacune des espèces peut conduire à l’élargissement de la niche occupée par l’ensemble des espèces (mécanisme A, figure 2.6). D’autre part, la répartition des espèces dans l’espace trophique peut entraîner un chevauchement plus ou moins grand des niches de chacune des espèces et donc une

variation de la niche trophique de l'ensemble (mécanisme B, figure 2.6). L'ensemble des sites étudiés montrent qu'il n'y a pas de relation significative entre l'aire moyenne de la niche trophique spécifique, le gradient longitudinal et la richesse spécifique. En revanche, un modèle multi-linéaire combinant gradient longitudinal et richesse spécifique explique 74 % de la variation de la distance moyenne entre espèces (p -value = 0,004). L'effet du gradient est positif (partial p -value = 0,003), tandis que l'effet de la richesse spécifique est négatif (partial p -value = 0,044). En accord avec ce résultat, le chevauchement moyen des niches trophiques spécifiques (AITN_{ove}) augmente significativement sous l'effet de la richesse spécifique (figure 4.6). Il semble donc que ce soit essentiellement la répartition des espèces au sein de l'espace trophique, qui soit responsable des variations de l'aire de la niche occupée par l'ensemble des poissons.

4.3 Conclusion et perspectives

Conformément aux attentes théoriques (e.g. Power & Dietrich, 2002), l'étude de l'influence du gradient longitudinal montre son rôle déterminant dans l'organisation du réseau trophique. Selon le modèle développé pour les douze sites étudiés, le gradient et la richesse spécifique expliquent 88 % de variance de l'aire de la niche trophique. Pourtant, l'étendue du gradient longitudinal reste limitée (par exemple, la surface maximale des bassins versants est de 250 km²). Ainsi la richesse spécifique de nos sites varie entre 3 et 12 espèces, ce qui ne représente qu'une partie de la variabilité couramment observée en milieu tempéré (de 1 à 16 espèces, hors Amérique du nord, d'après Matthews, 1998). Certes, cette variation de richesse est déjà substantielle, mais l'augmentation de richesse se traduit essentiellement par l'apparition d'espèces omnivores (figure 4.1) au détriment des espèces invertivores, dont le régime alimentaire est plus spécialisé. Il est donc légitime de penser qu'un gradient plus large permettrait de prendre en compte des richesses spécifiques plus élevées, faisant intervenir plus de super-prédateurs, dont l'addition dans le réseau trophique entraîne de profondes modifications (addition d'un niveau trophique supplémentaire, effet « top-down »). Considérant un gradient longitudinal beaucoup plus étendu, il est donc possible d'envisager un effet positif de la richesse spécifique sur l'aire de la niche trophique. Il faut aussi souligner que ces résultats ont été obtenus à partir d'un système limité aux poissons. Même si les limites d'un écosystème sont toujours un peu arbitraires (Holt, 1993), et qu'il sera toujours très difficile d'échantillonner tous les êtres vivants d'un cours d'eau (e.g. les bactéries), le compartiment piscicole ne constitue qu'une partie du réseau trophique. Ces résultats demandent donc à être étendus à des études incluant d'autres compartiments des écosystèmes lotiques, comme les macroinvertébrés.

D'après les douze sites étudiés, l'aire de la niche trophique piscicole augmente le long du gradient longitudinal. Il est donc nécessaire d'étudier au préalable l'effet du gradient pour pouvoir s'y soustraire et étudier l'impact d'autres déterminants écologiques. Dans le cas contraire, la comparaison de l'organisation trophique de sites différents ne sera pertinente que si ces sites ont la même position sur le gradient longitudinal.

Chapitre 5

Effet de la variabilité thermique sur la longueur de chaîne trophique

5.1 Problématique

Après avoir testé l'effet du gradient longitudinal, j'ai examiné l'effet de la stabilité sur le réseau trophique. La cause ultime des variations du réseau appelée « stabilité dynamique » est l'hypothèse la plus contestée actuellement (Takimoto & Post, 2012). Cependant les études les plus récentes semblent décrire une diminution de la longueur de chaîne trophique avec l'augmentation des perturbations (MacHugh *et al.*, 2010 ; Sabo *et al.*, 2010). L'originalité du travail de MacHugh *et al.* (2010) réside dans l'utilisation d'un indice de perturbation multivarié regroupant hydrologie, mobilité du substrat et température. Prenant en compte la variabilité de la température pour la première fois, sans pour autant tester isolément son effet, ils trouvent un impact significatif de la stabilité dynamique sur la longueur de chaîne trophique. Voulant approfondir cette question, j'ai donc examiné si la variabilité thermique seule peut influencer la longueur de chaîne trophique. Pour cela, j'ai saisi l'opportunité d'une collaboration avec l'équipe « écosystèmes eaux courantes » de Irstea Aix-en-Provence qui a mis à ma disposition un jeu de données isotopiques sur le bassin versant du Bez (Drôme, France). Profitant d'une description détaillée des réseaux trophiques étudiés, j'ai pu relier les effets de la variabilité thermique à la structure du réseau trophique et ainsi identifier quelles causes immédiates étaient responsables des variations de longueur de chaîne trophique.

5.2 Résultats et discussion

Les cinq sites choisis par l'équipe d'Irstea Aix-en-Provence ont permis de se focaliser sur une seule des trois causes ultimes : la stabilité dynamique (article C). Plus précisément, ces cinq sites diffèrent principalement par leur régime thermique (Figure 5.1), ce qui a permis de tester l'hypothèse d'une influence négative de la variabilité de la température.

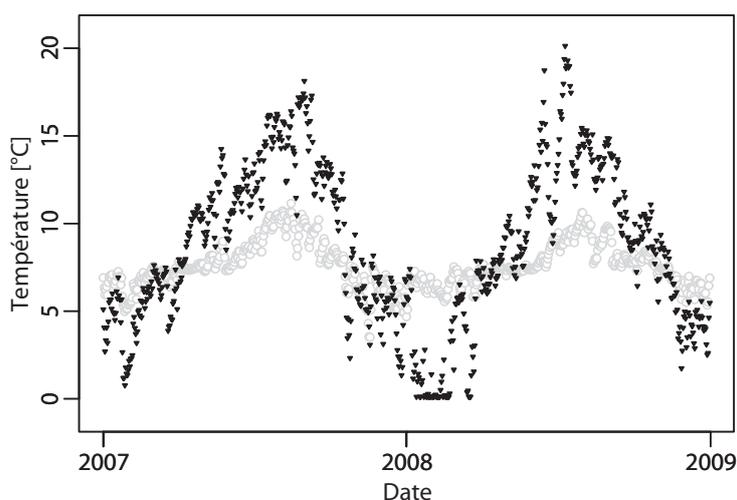


FIGURE 5.1 – Régime thermique des deux sites les plus contrastés, Archiane (cercles gris) et Gats (triangles noirs).

Ces différences de variabilité thermique se retrouvent au niveau des communautés biologiques. Pour le compartiment des macroinvertébrés, les sites les plus stables d'une part, et les plus perturbés d'autre part, présentent des peuplements semblables. En revanche, les peuplements sont différents entre sites stables et perturbés. Pour les poissons, le peuplement est le même sur tous les sites (seuls la truite et le chabot sont présents), mais on retrouve la distinction entre sites stables et instables au niveau de la taille des individus : les plus grands individus sont retrouvés sur les sites les plus stables (Abdoli *et al.*, 2007).

Cette opposition entre sites stables/instables est aussi observée avec la longueur de chaîne trophique. Les sites les plus stables ont les chaînes les plus longues (figure 5.2). Cependant le nombre très limité de sites étudiés ne nous permet pas d'établir de relation significative entre la longueur de chaîne et le coefficient de variation de la température. À partir des valeurs de longueur de chaîne trophique et de coefficient de variation de la température disponibles pour des cours d'eau néo-zélandais (MacHugh *et al.*, 2010), un modèle linéaire hautement significatif a été construit, expliquant 64 % de la variabilité de la longueur de chaîne trophique par les coefficients de variation de la température. Les valeurs observées sur les cinq sites du Bez sont à l'intérieur de l'intervalle de prédiction de ce modèle et sont donc en cohérence avec le modèle.

Malgré les fortes divergences de régime thermique entre les cinq sites, entraînant des différences en termes de communautés biologiques, la structure des cinq réseaux trophiques est globalement similaire (figure 5.3). Les quatre mêmes guildes (brouteurs/râcleurs, filtreurs/broyeurs, macroinvertébrés prédateurs et poissons invertivores) sont présentes sur les cinq sites avec une organisation semblable d'un site à l'autre : les brouteurs/râcleurs

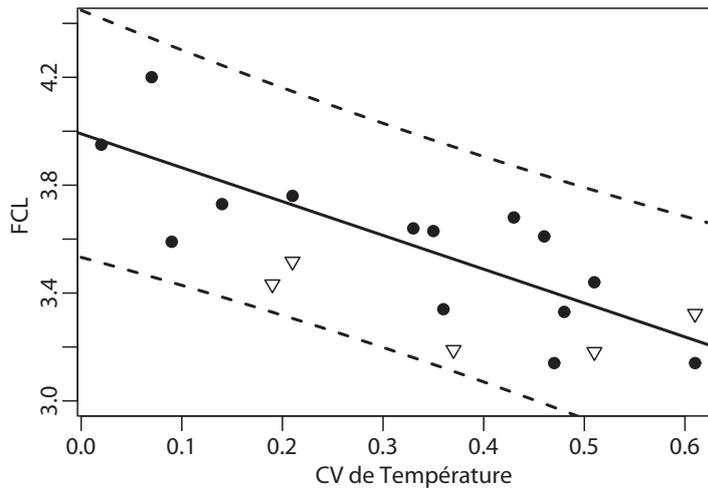


FIGURE 5.2 – Relation entre longueur de chaîne trophique (FCL) et coefficient de variation (CV) de la température. Insertion des valeurs de FCL obtenues pour les cinq sites du Bez (triangles blancs) dans le modèle linéaire (ligne noire) construit avec les données de MacHugh *et al.* (2010) (ronds noirs). Les lignes pointillées donnent l'intervalle de prédiction du modèle à 95 % ($R^2 = 0,64$ et $p - value < 0,001$).

et les filtreurs/broyeurs sont à la base du réseau, dépendant de sources de matière organique différentes (pour l'une appauvrie et pour l'autre enrichie en ^{13}C); les macroinvertébrés prédateurs ont une position trophique intermédiaire, indiquant qu'ils intègrent les deux sources de matière organique en consommant des animaux appartenant aux deux guildes précédentes; et les poissons invertivores occupent le sommet du réseau trophique. Ces réseaux trophiques constituent un exemple remarquable de réseau où les deux filières énergétiques conventionnelles (photosynthétique et détritique) sont représentées et sont bien distinguables. En dépit de ces similitudes de structure trophique, l'analyse en détail des positions trophiques des quatre guildes montre que le niveau trophique de toutes les guildes sauf celui des brouteurs/râpeurs, est significativement plus élevé sur les sites pour lesquels la température est plus stable. Pour ces sites, il est possible que les filtreurs/broyeurs dépendent d'une voie énergétique différente, et que celle-ci conduise à un niveau trophique plus élevé pour cette guildes. Indirectement, cela entraînerait également une augmentation de niveau trophique pour les macroinvertébrés prédateurs et les poissons invertivores. L'analyse des positions trophiques révèle en tout cas que l'allongement de la chaîne trophique sur les sites les plus stables thermiquement, est due à une augmentation du niveau trophique de la guildes des filtreurs/broyeurs.

L'analyse des causes immédiates, pouvant expliquer les différences de longueur de chaîne trophique observées entre les cinq sites, conduit à écarter le mécanisme d'addition, car tous les sites possèdent le même super-prédateur : les poissons invertivores. Le mécanisme d'insertion ne me semble pas convenir non plus. Même si les communautés

biologiques macroinvertébrés présentent des différences entre les sites stables et instables, la structure et le fonctionnement des réseaux trophiques des cinq sites sont globalement identiques : il n'y a pas d'insertion de niveau trophique intermédiaire. En revanche, le mécanisme d'omnivorie peut expliquer une diminution de la chaîne trophique sur les sites où la variabilité de la température est la plus élevée. Les variations rapides de température sont en effet susceptibles d'induire un stress pour les organismes, qui auront alors besoin de plus d'énergie pour le surmonter. À niveau de ressources constant, les individus auront donc tendance à être plus opportunistes pour subvenir à leurs besoins, augmentant le phénomène d'omnivorie.

5.3 Conclusion et perspectives

Cette étude apporte un nouveau soutien à l'hypothèse de « stabilité dynamique » en montrant que la variabilité de la température réduit significativement la longueur de chaîne trophique. Elle montre aussi, pour la première fois, que l'effet de la variabilité thermique seule peut réduire la longueur de chaîne. Les cinq sites du bassin versant du Bez n'ont certes pas permis de valider statistiquement cette conclusion, mais ils sont en accord avec le modèle construit à partir des 14 sites néo-zélandais. Surtout, ces cinq sites ont permis d'établir que les différences de longueur de chaîne proviennent des différences de niveau trophique de la guildes des filtreurs/broyeurs et que le mécanisme d'omnivorie apparaît comme la cause immédiate de diminution de la longueur de chaîne trophique la plus probable. Il reste maintenant à confirmer cette présomption par des analyses de contenus stomacaux. Selon le modèle construit dans cette étude, la réduction de la longueur de chaîne est de 0,8 niveaux trophiques, lorsque le coefficient de variations de la température passe de 0,02 à 0,61. À titre de comparaison, Woodward *et al.* (2010b) ont montré que la longueur de chaîne trophique augmente de 0,6 niveaux trophiques lorsque la température augmente de 6,8 à 23,5 °C. La température peut donc influencer les réseaux trophiques de deux manières différentes : positivement, via sa valeur moyenne et négativement via sa variabilité. L'effet de la température en est d'autant plus complexe, que sous le climat tempéré les températures les plus chaudes sont souvent associées aux plus fortes variabilités. Par ailleurs, la température est aussi susceptible d'avoir un impact sur le fractionnement isotopique (Power *et al.*, 2003), ce qui complexifie le calcul de la longueur de chaîne trophique. Il est en tout cas surprenant de constater que l'étude de l'influence de la température sur les réseaux trophiques reste encore peu développée (Woodward *et al.*, 2010b), alors que le changement climatique global est en marche et se traduira, pour les écosystèmes lotiques, par une modification des régimes thermiques et en particulier par une plus grande variabilité thermique (Woodward *et al.*, 2010a).

5.3. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

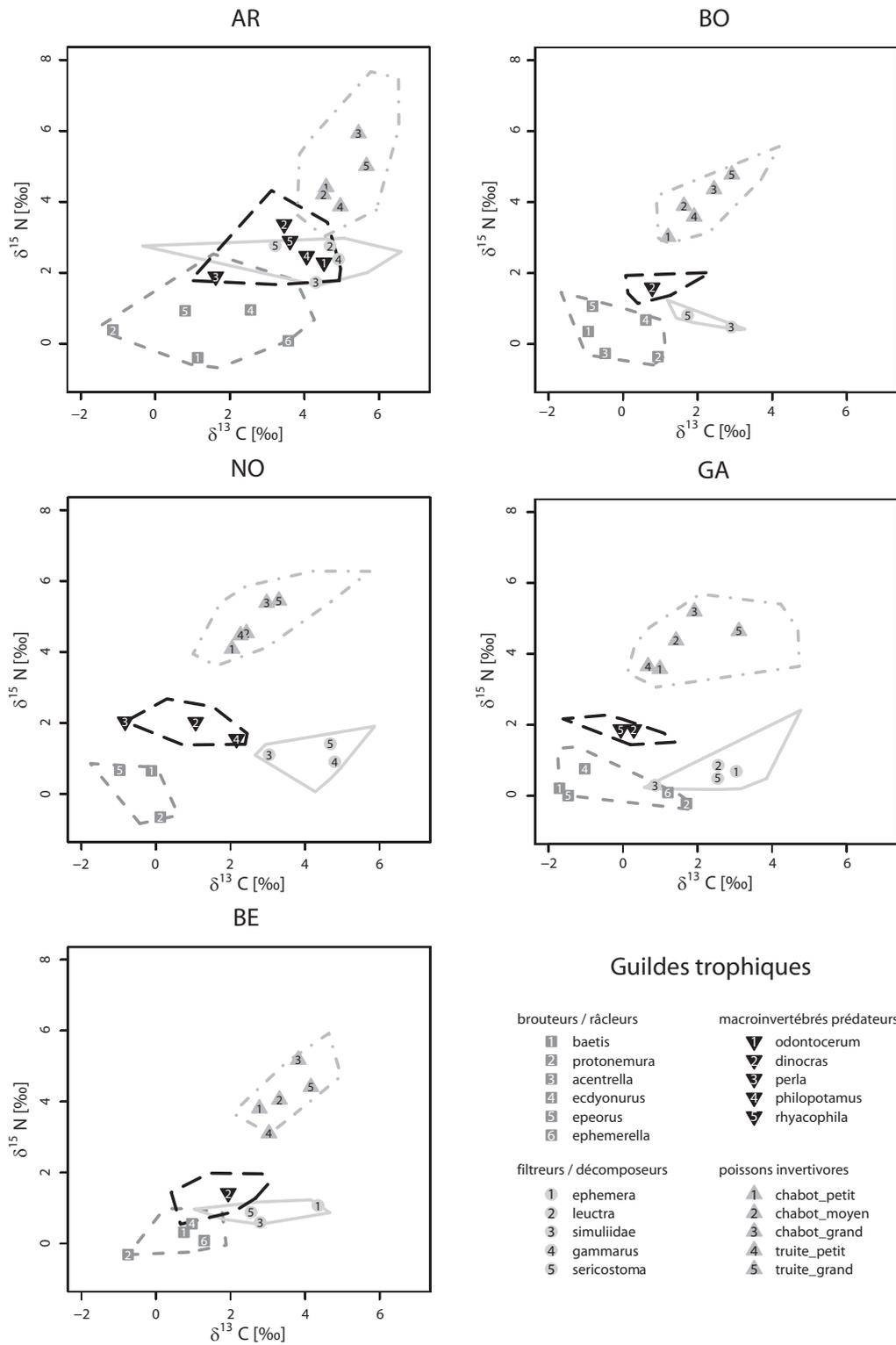


FIGURE 5.3 – Structure des réseaux trophiques des cinq sites. Les polygones représentent les niches trophiques des quatre guildes. Les points représentent la valeur isotopique moyenne de chaque taxon.

Chapitre 6

Influence de l'occupation des sols sur les sources de matière organique exploitées par le réseau trophique aquatique, et implications pour son fonctionnement

6.1 Problématique

La matière organique d'une rivière peut avoir deux origines : elle peut être produite dans le cours d'eau par les organismes autotrophes (principalement par photosynthèse, matière organique autochtone) ou elle peut provenir du milieu terrestre environnant (matière organique allochtone)¹. La matière organique *aquatique* alimente la voie *photosynthétique* mais contribue aussi à la filière *détritique* par le biais des excréments et de la mort des organismes. En revanche, la matière organique *terrestre* participe uniquement à la voie *détritique*, c'est pourquoi il se produit souvent un amalgame entre matière organique *aquatique* et filière *photosynthétique*, et entre matière organique *terrestre* et filière *détritique*. Selon le RCC, les contributions relatives de ces deux sources de matière organique varient avec la position sur le gradient longitudinal en fonction du degré d'éclairement du cours d'eau (Vannote *et al.*, 1980). Si la matière organique d'origine terrestre constitue la principale source d'énergie pour les petits cours d'eau forestiers de l'amont du gradient, il est attendu que les cours d'eau ouverts² dépendent plus de la matière organique aquatique (Leberfinger *et al.*, 2011). Toutefois, un ensemble de travaux convergents tendent à montrer que la litière allochtone serait la source dominante de matière organique pour de nombreux cours d'eau (Woodward *et al.*, 2005c ; Cummins *et al.*, 1989), y compris pour des cours d'eau ouverts (Leberfinger *et al.*, 2011). Ce résultat reste encore à confirmer, car

1. La matière organique dérivant de l'amont peut avoir une double origine autochtone et allochtone.

2. Les cours d'eau ouverts sont ceux dont la canopée est inexistante ou ne couvre pas le cours d'eau.

le nombre d'études examinant les contributions relatives de la matière organique aquatique et terrestre est limité (Hladyz *et al.*, 2011 ; Leberfinger *et al.*, 2011). Déterminer l'origine des sources de matière organique amène naturellement à s'intéresser au milieu terrestre environnant le cours d'eau. En effet, la quantité et la qualité de la matière organique dépendent directement de la végétation rivulaire (Hladyz *et al.*, 2009) : l'absence de ripisylve peut réduire les apports de matière organique allochtone (Campbell *et al.*, 1992) mais favoriser la production photosynthétique de matière organique aquatique (Quinn *et al.*, 1997). L'occupation des sols au voisinage d'un cours d'eau est donc supposée influencer les ressources exploitées par le réseau trophique aquatique. Il a déjà été montré que l'exploitation des sols (agriculture, urbanisation) modifie fortement la structure et le fonctionnement des écosystèmes aquatiques, causant par exemple des dégradations de l'habitat, de la qualité physico – chimique et en conséquences des modifications de la composition des communautés animales et végétales (Allan, 2004 ; Marzin *et al.*, 2012). Cependant, les effets de l'occupation des sols sur les réseaux trophiques lotiques restent peu étudiés (Crane *et al.*, 2011). De plus, ces effets sont supposés intervenir à différentes échelles spatiales dont les importances relatives restent à clarifier (Allan *et al.*, 1997). À l'échelle régionale du bassin versant, il est attendu que les zones forestières réduisent les apports de nutriments, de polluants et de sédiments (Bott *et al.*, 2006) et ainsi limitent la productivité des cours d'eau. À l'échelle locale du corridor fluvial, il est attendu que la déforestation par l'agriculture ou l'urbanisation entraîne une augmentation de la température, une diminution de la largeur, de la rugosité et de la stabilité du lit du cours d'eau (Sweeney & Czapka, 2004) et une réduction des apports de matière organique allochtone (Woodward & Hildrew, 2002). De plus l'agriculture et l'urbanisation causent souvent une pollution diffuse de pesticides et de nutriments susceptibles de modifier le réseau trophique (Woodward & Hildrew, 2002).

L'objectif de cette étude consiste à préciser les effets de l'occupation des sols sur le réseau trophique à l'échelle régionale et locale. En particulier, j'ai examiné si l'exploitation des sources de matière organique par le réseau trophique est influencée par l'occupation des sols et si les modifications éventuelles induisent un changement de fonctionnement du réseau trophique. L'occupation des sols peut donc avoir un effet direct sur le réseau trophique ou un effet indirect via la modification des sources de matière organique à la base du réseau. Pour tester ces hypothèses, comme pour l'étude du gradient longitudinal, l'écosystème a été limité au compartiment piscicole, car il constitue un bon compromis entre effort d'échantillonnage, et la prise en compte d'une part significative du réseau trophique. Suivant les recommandations de l'étude portant sur le gradient longitudinal, j'ai d'abord testé si l'effet du gradient était significatif ; le cas échéant, son effet a été éliminé, avant d'examiner les effets de l'occupation des sols. Pour clarifier les mécanismes associés aux éventuels effets de l'occupation des sols sur les réseaux trophiques, j'ai commencé par tester si l'occupation des sols influençait les sources de matière organique exploitées, utilisant les signaux isotopiques moyens du carbone ($\delta^{13}\text{C}_{\text{moy}}$), ainsi que la métrique CR. Puis, j'ai regardé si des modifications au niveau de ces sources de matières organique entraînaient des changements plus profonds du fonctionnement du réseau trophique, avec

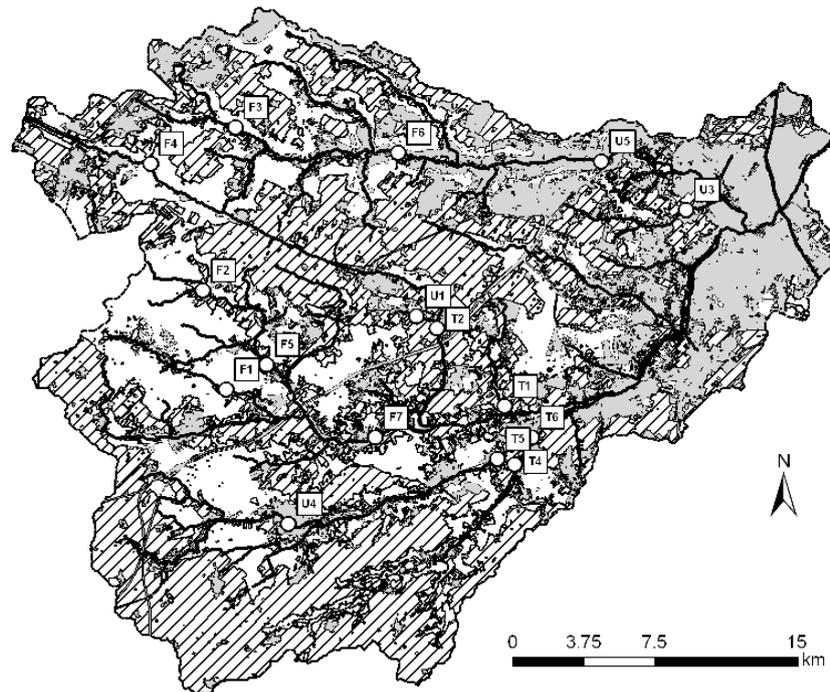


FIGURE 6.1 – Positions des seize sites utilisés pour étudier l’effet de l’occupation des sols sur le réseau trophique. Les zones forestières sont représentées en blanc, les zones agricoles correspondent aux parties hachurées et les zones urbaines sont en gris.

les métriques NR, AITN et FCL. Parallèlement, j’ai aussi conduit ces analyses au niveau spécifique (considérant aussi les métriques D et $AITN_{ove}$), pour tester si les modifications de la niche trophique occupée par le peuplement de poissons étaient dues à des espèces généralistes, exploitant des sources de matière organique plus ou moins diversifiées (mécanisme A, figure 2.6), ou à des espèces spécialistes, dont les niches trophiques s’éloignent (mécanisme B, figure 2.6). Les métriques CR, NR, AITN, FCL, D, et $AITN_{ove}$ sont décrites à la section 2.5.

6.2 Méthodologie

6.2.1 Choix des sites et occupation des sols

Pour cette étude, 16 sites situés sur le bassin versant de l’Orge ont été retenus (figure 6.1). Le choix de ces sites a été exposé en détail dans la partie méthodologique 3.2. Il a permis de tester les effets de l’occupation des sols à une échelle locale et régionale (Allan *et al.*, 1997 ; Allan, 2004). L’échelle régionale a été définie par le bassin versant drainé par le cours d’eau en amont de la station, et l’échelle locale a été définie par une bande de 100 m de large et de 2 km de long, de part et d’autre du cours d’eau en amont

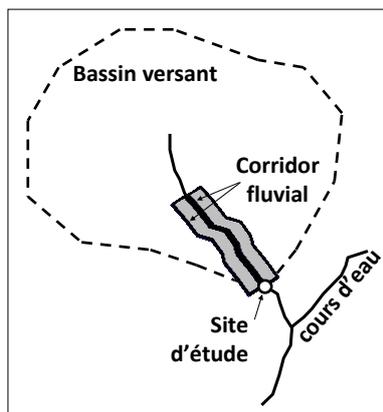


FIGURE 6.2 – Représentation schématique des échelles régionale (bassin versant) et locale (corridor fluvial).

immédiat de la station (figure 6.2). L'occupation des sols a été décrite à ces deux échelles grâce à la couche d'information « MOS 2003, format raster, maille de 25 m » de l'Institut d'aménagement et d'urbanisme d'Île-de-France donnant le mode d'occupation des sols en 48 postes. Dans un souci de simplification, ces données ont été agrégées en trois modes d'occupation (zones forestières = F, zones agricoles = A, et zones urbaines = U) qui sont les plus communément utilisés³. Le pourcentage des trois différentes zones (F, A, U) a été calculée aux deux échelles spatiales, comme le rapport entre l'aire de la surface occupée par une zone, sur l'aire de la surface occupée par les trois zones, multiplié par cent. On obtient ainsi 6 variables d'occupation des sols : F_R , A_R , U_R (à l'échelle régionale) et F_L , A_L , U_L (à l'échelle locale). Ces variables ne sont pas indépendantes, puisque par construction les trois zones (F, A et U) couvrent la totalité de l'espace considéré (bassin versant à l'échelle régionale, ou corridor fluvial à l'échelle locale), excepté les surfaces en eau. Les liens les plus forts sont observés entre F_R et A_R (négativement corrélés, $\rho = -0,77$ méthode de Spearman) entre U_R et U_L (positivement corrélés, $\rho = 0,71$, méthode de Spearman) et entre F_L et U_L (négativement corrélés, $\rho = -0,84$, méthode de Spearman). Les autres corrélations de rang (méthode de Spearman) ont toutes un coefficient rho dont la valeur absolue est inférieure à 0,7. La position des sites le long du gradient longitudinal a été définie suivant la même démarche que celle utilisée pour l'étude de l'effet du gradient longitudinal (section 4) et est mesurée par la variable UDG.

6.2.2 Démarche utilisée

L'échantillonnage des sites, la conservation, la préparation et les analyses isotopiques des échantillons ont été conduites suivant les méthodes décrites dans le chapitre

3. Le détail de l'agrégation se trouve à la section 3.2; les surfaces en eau n'ont pas été prise en compte.

3. Les signaux isotopiques ont été corrigés suivant la chaîne de correction exposée aux chapitres 1 et 2. Pour prendre en compte la variabilité spatiale des signaux isotopiques des sources de matière organique à la base du réseau trophique, les signaux isotopiques des échantillons ont été ajustés en fonction d'une ligne de base (section 2.4). Dans le cadre de cette étude, la ligne de base est constituée du consommateur primaire Gammaridae; les bivalves filtreurs sont plus couramment utilisés comme ligne de base dans la littérature (notamment en milieu lacustre, Vander Zanden *et al.*, 1997), mais ils n'étaient pas présents sur l'ensemble de nos sites. Sur quatorze sites, des bivalves Sphaeriidae ont été échantillonnés pour vérifier que les signaux isotopiques de l'azote étaient identiques entre Sphaeriidae et Gammaridae (t-test apparié, p -value = 0,810, différence moyenne = 0,09 ‰) et valider le choix des Gammaridae comme consommateurs primaires.

L'effet de l'occupation des sols a d'abord été testé sur le peuplement de poisson. Trois métriques décrivant le peuplement ont été utilisées : la richesse spécifique du peuplement de poisson, la proportion d'espèces invertivores (calculée suivant la même méthode que dans l'article portant sur l'effet du gradient, annexe B) et la biomasse moyenne des individus (calculée sur la base de relations longueur/masse établies au niveau spécifique; pour plus de détail, voir la méthode décrite dans l'article portant sur l'effet du gradient).

L'effet de l'occupation des sols sur le réseau trophique a été quantifié grâce à des métriques de structure et fonctionnement du réseau trophique calculées au niveau du peuplement (en tenant compte de la position trophique des espèces) ou au niveau spécifique (en tenant compte de la position trophique des individus d'une espèce donnée). Pour calculer ces métriques, nous avons adopté la même méthode que celle utilisée dans l'article portant sur l'effet du gradient.

Au niveau du peuplement de poisson, les métriques ont d'abord été calculées pour chaque site, sur une sélection de dix individus choisis au hasard. 1000 tirages aléatoires ont permis d'obtenir une distribution des valeurs de chaque métrique, et la médiane de cette distribution donne la valeur de la métrique considérée. Les métriques calculées au niveau du peuplement sont CR, NR, AITN et FCL. En complément les signaux isotopiques moyens du carbone ($\delta^{13}\text{C}_{\text{moy}}$) de chaque site ont été calculés comme étant la moyenne des signaux isotopiques moyens de chaque espèce (tous les poissons analysés étant considérés).

Au niveau spécifique, les métriques ont été calculées pour chaque espèce de chaque site, pour laquelle cinq individus au moins étaient disponibles (un site pour lequel toutes les espèces étaient présentes en nombre inférieur à cinq individus a ainsi été écarté des analyses réalisées au niveau spécifique). Sur chacun des quinze sites restants, cinq individus par espèce ont été sélectionnés au hasard et les métriques ont été calculées pour chaque espèce. 1000 tirages aléatoires de cinq individus ont permis d'obtenir une distribution des valeurs de chaque métrique, et la médiane de cette distribution donne la valeur de la métrique pour chaque espèce de chaque site. La valeur de la métrique pour chaque site est ensuite obtenue, en faisant la moyenne des métriques de chaque espèce. Les métriques

CHAPITRE 6. INFLUENCE DE L'OCCUPATION DES SOLS

calculées au niveau spécifique sont CR, NR, AITN, D_C , D_N ⁴, et $AITN_{ove}$.

Globalement, les métriques directement liées au carbone peuvent être considérées comme indicatrices des sources de matières organiques à l'origine du réseau ; les autres métriques reflètent d'avantage la structure du réseau trophique dans son ensemble. Le tableau 6.1 propose un récapitulatif des variables et des métriques employées.

TABLEAU 6.1 – Récapitulatif des tests effectués entre les métriques du peuplement de poisson ou du réseau trophique et les 6 variables de l'occupation des sols. À ces tests s'ajoutent également le test de l'effet du gradient amont-aval (UDG), ainsi que le test d'effet mixte, combinant plusieurs variables de l'occupation des sols aux deux échelles spatiales (n.s. signifie « test non significatif »). Une case vide indique l'absence de relation significative (quelle soit linéaire ou polynomiale) entre la variable et la métrique considérée. Un '+' indique une relation positive, tandis qu'un signe '-' indique une relation négative. Le '#' signale les métriques qui sont utilisées pour déterminer l'influence de l'occupation des sols sur les sources de matière organique.

	Gradient UDG	Occupation des sols						mixte
		Échelle						
		régionale			locale			
		F_R	A_R	U_R	F_L	A_L	U_L	
peuplement de poissons								
richesse spécifique	+					+		n.s.
proportion d'invertivores	-	+	-					n.s.
biomasse moyenne des poissons	+	-	+					n.s.
niveau du peuplement								
#								$\delta^{13}C_{moy}$
#								CR
	+							NR
	+							AITN
								FCL
niveau spécifique								
#								CR
								NR
					+	-		AITN
#								D_C
								D_N
								$AITN_{ove}$

4. D_C et D_N sont les distances euclidiennes moyennes entre les positions trophiques des taxons sur l'axe $\delta^{13}C$ et l'axe $\delta^{15}N$, respectivement. Elles sont calculées comme D (cf. section 2.5.2), mais uniquement sur l'axe $\delta^{13}C$ ou $\delta^{15}N$, respectivement.

L'analyse des relations entre variables environnementales et métriques (liées à la composition des peuplements de poissons ou au réseau trophique) a été menée en trois étapes. Dans une première étape, l'effet du gradient longitudinal sur les métriques a été testé par régression linéaire. S'il était significatif, l'effet du gradient a été éliminé en remplaçant chaque métrique concernée par les résidus du modèle linéaire. Au final, l'existence d'un effet significatif du gradient longitudinal concerne cinq métriques (tableau 6.1). Dans un souci de simplification, les résidus issus de ces modèles qui sont utilisés par la suite pour tester les effets de l'occupation des sols, sont dénommés comme la métrique initiale. Dans une seconde étape, après l'élimination des éventuels effets du gradient longitudinal, les liens entre métriques et occupation des sols ont été abordées à chacune des deux échelles spatiales. Pour chaque métrique et chaque type d'occupation du sol, des modèles linéaires simples ou quadratiques ont été testés. Seuls les modèles présentant des liens significatifs sont indiqués dans le tableau 6.1. Les modèles quadratiques ont été préférés aux modèles simples lorsqu'ils expliquaient une part supplémentaire significative de la métrique.

Enfin dans une troisième étape, l'effet combiné des deux échelles spatiales sur les métriques a été testé par des modèles de régression multiple pas à pas (les variables explicatives utilisées sont les pourcentages des trois types d'occupation du sol à l'échelle locale et régionale ; pour chaque variable le terme simple et son carré sont pris en compte). Les seuls modèles de régression multiple retenus sont ceux apportant une information supplémentaire aux modèles développés à l'étape d'analyse précédente.

6.3 Occupation des sols et peuplement de poisson

L'occupation des sols modifie profondément les peuplements de poissons : (1) la richesse spécifique est positivement liée à A_L par un modèle quadratique (p -value = 0,034, $R^2 = 0,28$) ; (2) la proportion d'invertivores diminue avec A_R (modèle quadratique p -value = 0,006, $R^2 = 0,43$) ; et (3) la masse moyenne des poissons augmente avec A_R (modèle quadratique p -value = 0,004, $R^2 = 0,55$). Une fois l'effet du gradient longitudinal éliminé, il est remarquable que le pourcentage de zones agricoles à l'échelle régionale ou locale (A_R ou A_L) soit le principal facteur de variation au niveau du peuplement piscicole.

Sur la base des observations (1) et (2), il semble que l'augmentation de la richesse spécifique du peuplement de poissons soit essentiellement due à l'apparition d'espèces omnivores, même si les effets (1) et (2) opèrent à des échelles spatiales différentes. L'augmentation de la richesse avec l'augmentation du pourcentage de surfaces agricoles à l'échelle locale (1) peut paraître surprenante, car les sites dont le corridor fluvial est dominé par l'agriculture, possèdent de fait une ripisylve limitée voire absente (du fait des pratiques de gestion). Or, la perte de ripisylve est généralement associée à une perte d'habitat pour les poissons, entraînant une baisse de la richesse spécifique du peuplement de poissons (Allan, 2004). L'apparition des espèces omnivores, souvent tolérantes sur de nombreux aspects de leur niche écologique (plasticité des habitats de ponte, tolérance à la qualité de l'eau...), et par conséquent capables de coloniser un tel milieu, expliquerait cette augmentation

globale de la richesse spécifique. L'apparition de ces espèces omnivores serait par ailleurs favorisée par une plus grande disponibilité des ressources sur les sites dont le pourcentage de zones agricoles à l'échelle régionale est élevé. En effet, les zones agricoles présentes sur le bassin versant sont connues pour augmenter l'apport de nutriments (azote, phosphore) vers le cours d'eau (Moog & Whiting, 2002 ; Anderson & Cabana, 2005). L'observation (3) semble confirmer cette hypothèse dans la mesure où une biomasse individuelle plus élevée dans les zones dominées par l'agriculture suggère un milieu plus riche en énergie. Logiquement l'effet du couvert forestier apparaît comme un effet miroir de celui des zones agricoles (augmentation de la part des espèces invertivores et réduction de la biomasse individuelle avec l'augmentation du couvert forestier) sachant qu'à l'échelle régionale zones forestières et zone agricoles dominant largement. Ainsi une diminution de la proportion d'espaces forestiers implique de fait une augmentation de la part des espaces agricoles et vice versa ; ces deux variables sont d'ailleurs négativement corrélées.

6.4 Effet de l'occupation des sols sur les sources de matière organique et implications pour le fonctionnement du réseau trophique

À l'échelle régionale, l'étendue des ressources exploitées par le peuplement de poissons (CR) est négativement liée à F_R par un modèle linéaire (p -value = 0,028, $R^2 = 0,30$, figure 6.3), mais cet effet ne se retrouve pas au niveau spécifique. Cela suggère que la diminution observée au niveau du peuplement ne provient pas d'une réduction de l'étendue des ressources exploitées par chaque espèce. En conséquence, ce serait donc le mécanisme B (cf. figure 2.6) qui s'appliquerait : les gammes de ressources exploitées par chacune des espèces seraient de plus en plus rapprochées, voire se chevaucheraient. Cette hypothèse semble confirmée par la tendance observée entre D_C et F_R (figure 6.3). La diminution de l'étendue des ressources exploitées par le peuplement de poisson peut s'expliquer par une plus faible diversité des ressources disponibles. À l'échelle régionale, les zones forestières limitent l'érosion et donc l'introduction d'une partie de la matière organique terrestre dans la rivière à l'inverse des zones agricoles et urbaines (Anderson & Cabana, 2005). En conséquence, la diversité des ressources disponibles diminue, ce qui pourrait limiter l'étendue des ressources exploitées.

À l'échelle locale, l'étendue des ressources exploitées par le peuplement de poisson est positivement influencée par U_L ⁵ (p -value = 0,008, $R^2 = 0,53$, figure 6.4). Au niveau spécifique, l'étendue des ressources exploitées est également positivement liée à U_L , mais par un modèle linéaire (p -value = 0,045, $R^2 = 0,28$, figure 6.4). De plus, on observe également que les distances moyennes entre les espèces sur l'axe $\delta^{13}C$ (D_C) ne changent pas significativement avec l'occupation des sols. Malgré la perte d'habitats associée à l'artifi-

5. Il y a également un effet négatif de F_L (moins fort), qui s'explique par la corrélation négative entre ces deux variables d'occupation des sols.

6.4. OCCUPATION DES SOL ET SOURCE DE MATIÈRE ORGANIQUE

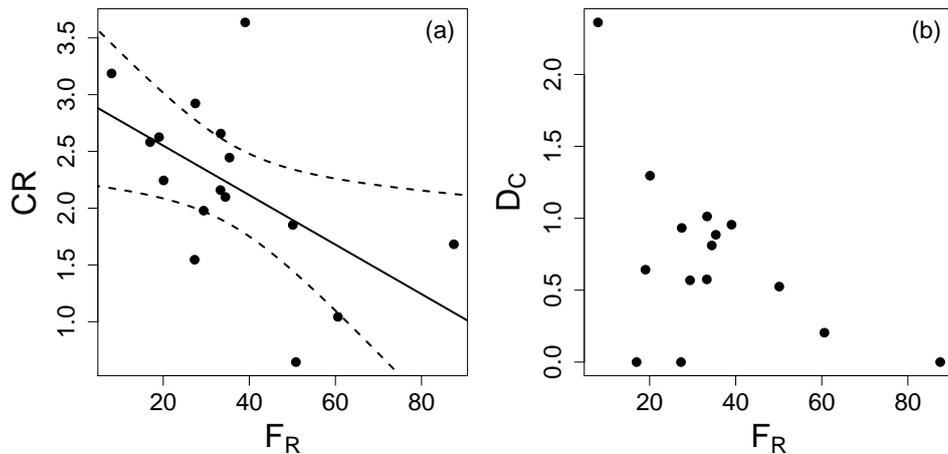


FIGURE 6.3 – Figure (a) : évolution de l'étendue des ressources exploitées par le réseau trophique (CR) en fonction du pourcentage de zones forestières sur le bassin versant (F_R). Le modèle linéaire est donné par la droite, tandis que les courbes en trait pointillé représentent l'intervalle de confiance à 95 % du modèle. Figure (b) : évolution de la distance moyenne entre espèces sur l'axe $\delta^{13}\text{C}$ en fonction de F_R ; une tendance négative est perceptible.

cialisation des cours d'eau en zone urbaine (canalisation, rectification des berges, Hladyz *et al.*, 2011) et donc la perte des ressources liées à ces habitats, la communauté piscicole semble exploiter une diversité de ressources d'autant plus grande que le pourcentage de zones urbaines sur le corridor fluvial est grand. Les résultats obtenus au niveau spécifique, suggèrent que la diversification des ressources utilisées par la communauté piscicole est le résultat d'une diversification des ressources exploitées par chacune des espèces (mécanisme A, figure 2.6). Les rejets divers et variés associés aux zones urbaines pourraient contrebalancer la perte de ressources liée à l'artificialisation des cours d'eau. Cependant, sur le bassin versant de l'Orge, certains types de rejets sont limités, dans la mesure où les eaux usées de la partie la plus urbanisée du bassin versant sont traitées et rejetées à l'extérieur du bassin (cf. 3.1). Par ailleurs, la stabilité de l'écosystème influence directement le niveau de stress auquel sont soumis les organismes. Or, celui-ci pourrait également expliquer l'accroissement de la diversité des ressources exploitées par les poissons. Dans les cours d'eau, où les zones urbaines prédominent à l'échelle locale, les poissons sont soumis à des perturbations plus fortes (pollution (Feld *et al.*, 2011 ; Friberg *et al.*, 2011), variabilité des débits (Paul & Meyer, 2001 ; Leclere *et al.*, 2012)), tout en ayant un habitat plus homogène offrant moins de zones refuges. Pour résister à ces stress, les organismes ont donc besoin de plus d'énergie et sont potentiellement susceptibles d'élargir le champ des ressources qu'ils exploitent.

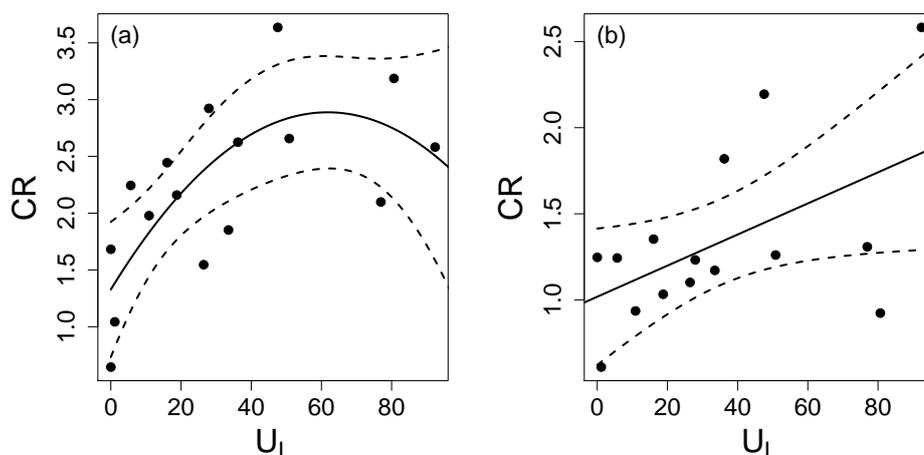


FIGURE 6.4 – Évolution de l'étendue des ressources exploitées (CR) en fonction du pourcentage de zones urbaines sur le corridor fluvial (U_L), au niveau du peuplement de poissons (figure (a)) et au niveau spécifique (figure (b)). Le modèle quadratique est donné par la ligne en trait plein, tandis que les courbes en trait pointillé représentent l'intervalle de confiance à 95 % du modèle. Au niveau spécifique (Figure 2b) le modèle est linéaire.

Le type d'occupation des sols à l'échelle régionale et à l'échelle locale influence donc la diversité des sources de matière organique exploitées par le réseau trophique. En revanche, la nature des sources de matière organique ne semble pas changer fondamentalement avec l'occupation des sols : les signaux isotopiques moyens du carbone restent effectivement semblables quel que soit le type d'occupation des sols. Contrairement à nos attentes, le pourcentage de zones forestières ou agricoles ne semble donc pas influencer l'origine de la matière organique utilisée par le réseau trophique, quelle que soit l'échelle spatiale abordée. En conséquence, la limitation voire l'absence des sources de matière organique autochtone photosynthétique sur les cours d'eau où le pourcentage de zones forestières est élevé, suggère que les cours d'eau étudiés exploitent principalement de la matière organique allochtone provenant de la végétation rivulaire, en accord avec Leberfinger *et al.* (2011). Cela expliquerait également pourquoi la diversité des sources de matière organique exploitées n'est pas plus grande sur les sites où les zones agricoles prédominent, alors qu'il y a potentiellement une plus grande hétérogénéité des sources sur ces sites⁶. Par ailleurs, les variations de la diversité des sources de matière organique exploitée par le réseau trophique ne semblent pas induire de changements dans le reste du fonctionnement et de la structure du réseau trophique : aucune autre métrique quantifiant le fonctionnement et la structure du réseau n'est significativement influencée par l'occupation des sols en même temps que CR (tableau 6.1).

6. Ces sites disposent à la fois de matière organique allochtone, provenant des rives ou de l'amont du cours d'eau, et de matière organique autochtone, provenant de la photosynthèse aquatique.

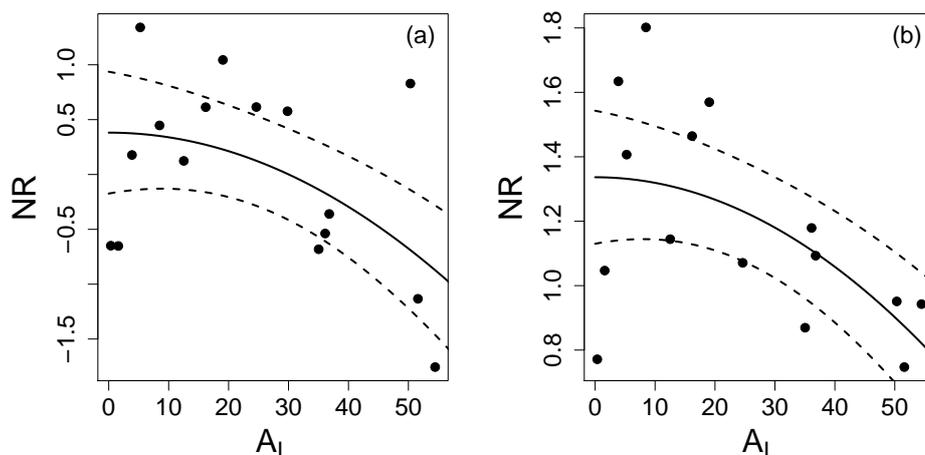


FIGURE 6.5 – Évolution de l'étendue des niveaux trophiques occupés par le réseau trophique (NR) en fonction du pourcentage de zones agricoles sur le corridor (A_L), au niveau du peuplement (figure (a)), et au niveau spécifique (figure (b)). Les modèles quadratiques apparaissent en trait plein, tandis que les courbes en trait pointillé représentent l'intervalle de confiance à 95 % du modèle.

6.5 Influence directe de l'occupation des sols sur le fonctionnement du réseau trophique

Si la modification de la diversité des sources de matière organique due à l'occupation des sols n'altère pas le fonctionnement et la structure du réseau trophique, on observe que l'occupation des sols peut néanmoins influencer le réseau trophique directement, sans passer par la modification des sources de matière organique.

Certes, aucune relation n'est significative à l'échelle régionale. Cependant, à l'échelle locale, l'étendue des niveaux trophiques occupés par le peuplement de poissons est négativement influencée par A_L (modèle quadratique, p -value = 0,046, $R^2 = 0,25$, figure 6.5). Au niveau spécifique, on trouve également que l'étendue moyenne des niveaux trophiques occupée par les espèces diminuent avec A_L (modèle quadratique, p -value = 0,028, $R^2 = 0,32$, figure 6.5). Par ailleurs, il n'y a pas de relation entre l'occupation des sols et la distance moyenne entre espèces sur l'axe $\delta^{15}N$. Ces résultats suggèrent donc que la diminution de l'étendue des niveaux trophiques occupés par le peuplement de poissons, est due au moins en partie, à la diminution de l'étendue moyenne des niveaux trophiques occupés par les espèces (mécanisme A, figure 2.6).

Étant donné que la richesse spécifique du peuplement de poissons augmente avec A_L , la diminution de l'étendue des niveaux trophiques occupés par le peuplement de poissons est surprenante : il est attendu qu'un peuplement de poissons plus riche en espèces occupe une plus grande étendue de niveaux trophiques (Cohen & Newman, 1991). Cepen-

nant, une plus grande diversité spécifique n'implique pas forcément une richesse trophique plus élevée en raison du phénomène de saturation fonctionnelle (Schwartz *et al.*, 2000 ; Carey & Wahl, 2011). L'étude du peuplement piscicole montre effectivement qu'un phénomène de saturation trophique est possible, car l'augmentation de la richesse spécifique semble due à l'apparition d'espèces omnivores, qui peuvent être redondantes. Cependant, si le processus de saturation trophique explique une stagnation, il n'explique pas la diminution de la diversité trophique. L'hypothèse de la stabilité de l'écosystème peut, quant à elle, expliquer ce phénomène. En effet, la présence de zones agricoles à l'échelle locale s'accompagne presque toujours de la perte de la ripisylve, ce qui entraîne une augmentation de l'amplitude des variations thermiques journalières de l'eau (Sweeney, 1999) et de la variabilité hydraulique (due au ruissellement et au drainage Wootton *et al.*, 1996). La présence de zones agricoles sur le corridor fluvial diminue donc la stabilité de l'écosystème, ce qui est susceptible de réduire l'étendue des niveaux trophiques (Sabo *et al.*, 2010 ; Hette-Tronquart *et al.*, 2012b). Par ailleurs, la perte de ripisylve entraîne généralement une diminution de l'hétérogénéité de l'habitat (Sweeney & Czapka, 2004). Or, la diversité des habitats offre potentiellement plus de zones de refuge pour les proies, ce qui réduit l'efficacité de la prédation, favorisant la spécialisation des régimes alimentaires, et augmente l'étendue des niveaux trophiques (Post *et al.*, 2000). A_L pourrait donc aussi influencer l'étendue des niveaux trophiques, en diminuant l'hétérogénéité de l'habitat. La forme quadratique de la relation indique l'existence potentielle d'un seuil (environ 20 %) sous lequel l'étendue des niveaux trophiques reste stable. De la même façon, Allan (2004) rapporte que les cours d'eau des zones agricoles restent en bon état jusqu'à ce que le pourcentage de zones agricoles soit assez élevé (plus de 30-50 %). On peut donc supposer que les effets décrits précédemment (diminution de la stabilité de l'écosystème et de l'hétérogénéité de l'habitat) ne deviennent réellement visibles qu'à partir d'un certain seuil (un niveau de stress et une diversité donnée de l'habitat) et donc d'un certain pourcentage de zones agricoles.

Comme les différents modes d'occupation des sols aux différentes échelles sont susceptibles d'avoir des effets contradictoires, j'ai également étudié l'effet combiné des deux échelles sur les relations entre occupation des sols et variations du réseau trophique. Pour tester les effets combinés des deux échelles, j'ai construit des modèles de régression multiple, sélectionnant pas à pas les différents types d'occupation des sols à différentes échelles spatiales. Un seul modèle significatif a été trouvé avec cette méthode : $FCL \sim A_R^2 + A_L^2 + U_R$ (p - value = 0,025, $R^2 = 0,53$). Dans le cas de la longueur de chaîne trophique, les zones agricoles semblent donc avoir deux influences contradictoires. À l'échelle régionale, en augmentant la quantité de nutriments (azote, phosphore) dans les cours d'eau (Moog & Whiting, 2002 ; Anderson & Cabana, 2005), elles allongeraient la chaîne trophique par l'intermédiaire de la disponibilité des ressources. Dans le même temps, à l'échelle locale, elles diminueraient la longueur de chaîne trophique (comme elles ont tendance à diminuer l'étendue des niveaux trophiques occupés), en réduisant (1) la quantité de matière organique terrestre reçue par le cours d'eau (Woodward & Hildrew, 2002), (2) en réduisant la stabilité de l'écosystème (Wootton *et al.*, 1996 ; Blann

et al., 2009) et (3) en diminuant l'hétérogénéité de l'habitat (Sweeney & Czapka, 2004). Concernant l'effet négatif de U_R , plusieurs hypothèses peuvent être avancées et notamment l'impact sur le régime hydraulique lié à l'imperméabilisation des sols. De plus, les rejets urbains par temps de pluie s'accompagnent souvent de pollutions (Feld *et al.*, 2011 ; Friberg *et al.*, 2011). En conséquence, plus le pourcentage de zones urbaines sur le bassin versant augmente, plus les cours d'eau sont soumis à de fortes perturbations, ce qui pourrait réduire la FCL, conformément à l'hypothèse de stabilité de l'écosystème (Sabo *et al.*, 2010).

6.6 Conclusion et perspectives

Le mode d'occupation des sols influence donc le réseau trophique de deux façons. Premièrement, l'occupation des sols modifie l'utilisation des sources de matière organique par le réseau trophique. Cette modification ne semble pas intervenir sur la nature (autochtone ou allochtone), mais plutôt sur la diversité des sources de matière organique employées. De manière surprenante, ces changements ne semblent pas entraîner d'autres modifications profondes du fonctionnement ou de la structure du réseau trophique. Deuxièmement, l'occupation des sols influence directement⁷ le nombre de niveaux trophiques occupés par le réseau et la longueur de chaîne trophique.

L'influence de l'occupation des sols intervient aux deux échelles (régionale et locale) de manière différente, ce qui confirme bien l'intérêt de considérer ces deux échelles spatiales (Allan *et al.*, 1997). De manière générale, les effets à l'échelle régionale semblent liés à la disponibilité de la ressource, tandis que les effets à l'échelle locale sembleraient d'avantage liés à la stabilité de l'écosystème et à l'hétérogénéité de l'habitat. En complément de l'étude réalisée au niveau du peuplement de poissons, l'analyse au niveau spécifique a montré que les effets liés à la disponibilité de la ressource semblent jouer via la spécialisation des espèces sur des niches trophiques différentes (mécanisme B, figure 2.6). Inversement, les effets liés à la stabilité de l'écosystème et à l'hétérogénéité de l'habitat semblent jouer via l'opportunisme des espèces qui se nourrissent sur une étendue plus large de ressources ou de niveaux trophiques (mécanisme A, figure 2.6).

En revanche, cette étude n'a pas révélé un mode d'occupation des sols dont les effets seraient prédominants par rapport aux autres. Étonnamment, le taux de zones forestières ou agricoles à l'échelle locale ne semble pas modifier les sources de matière organique exploitées par le réseau. Il était au contraire attendu que la présence ou l'absence de ripisylve sur le corridor fluvial modifie fortement les sources de matière organique à la base du réseau trophique. Cela confirmerait que les cours d'eau dépendent essentiellement de la matière organique provenant du milieu terrestre (Woodward *et al.*, 2005a ; Leberfinger *et al.*, 2011). Cependant, cette analyse repose sur le marquage naturel des isotopes stables, et la distinction entre sources de matière organique suppose que les signaux isotopiques

7. C'est-à-dire sans passer par une modification des sources de matière organique.

de ces sources soient différents (Rounick & Hicks, 1985). Or, l'absence de caractérisation marquée des signaux isotopiques du biofilm ne permet pas de conclure, même si l'analyse de macrophytes, d'algues et de litière prélevées en 2010, a révélé des signaux isotopiques différents. Il n'est donc pas totalement exclu que les similitudes observées entre sites à forte et faible ripisylve soient dues à un artefact isotopique et non à une utilisation similaire des sources de matière organique.

L'étude de l'articulation des deux échelles spatiales considérées suggère l'absence de domination des effets de l'une ou l'autre échelle, même si la plupart des effets observés se déroulent à l'échelle locale. Cette étude a néanmoins réaffirmé l'importance du corridor fluvial et de la ripisylve, déjà soulignée par Lake *et al.* (2001). La ripisylve fournirait de la matière organique allochtone, qui semble constituer une part essentielle de l'énergie exploitée par le réseau trophique. De plus, son absence entraînerait une diminution de la stabilité de l'écosystème et de l'hétérogénéité de l'habitat.

Cette étude est une des premières à aborder les effets de l'occupation des sols sur le fonctionnement des écosystèmes lotiques en considérant une partie importante du réseau trophique que représente le compartiment poissons⁸. Les variations observées de la diversité des ressources exploitées restent encore limitées (écart de 3 ‰ entre la plus faible et la plus grande diversité de ressources exploitées), mais constituent déjà une partie substantielle des variations couramment observées pour les écosystèmes lotiques (< 10 ‰, Post *et al.*, 2007b). Par ailleurs, les variations observées de longueur de chaîne trophique sont conséquentes puisque supérieures à un niveau trophique. Ces premiers résultats restent néanmoins à étayer en augmentant significativement le nombre de sites prospectés. L'idéal serait également de pouvoir étudier des cours d'eau dont l'occupation des sols est très homogène le long du gradient longitudinal, pour pouvoir limiter les interférences dues à la dérive de matière organique le long de ce gradient.

8. Jusqu'à présent la plupart des études ont évalué les effets de l'occupation des sols sur la structure des communautés biologiques ou sur le fonctionnement des premiers niveaux trophiques (Hladyz *et al.*, 2011).

Synthèse générale et perspectives de recherche

Contexte

Fry *et al.* (1978) et DeNiro & Epstein (1978, 1981) ont mis en évidence les liens qui existent entre les signaux isotopiques du carbone et de l'azote d'un animal et ceux de sa nourriture. Ces travaux fondateurs ont signé le début de l'utilisation des isotopes stables dans l'étude des relations trophiques. Si les premières études emploient essentiellement le signal isotopique du carbone pour identifier les préférences alimentaires des animaux (e.g. Rounick *et al.*, 1982), Ehleringer *et al.* (1986) soulignent déjà l'intérêt de l'utilisation des signaux isotopiques de plusieurs éléments pour tracer les flux de matière organique dans les réseaux trophiques (e.g. Peterson *et al.*, 1985). Les isotopes stables de l'azote sont alors mesurés pour déterminer de façon continue les niveaux trophiques. Il faut cependant attendre 1994, pour que le premier calcul de longueur de chaîne trophique soit réalisé à partir des ratios isotopiques de l'azote (Cabana & Rasmussen, 1994). L'étude des réseaux trophiques par l'analyse des isotopes stables passe alors d'une approche qualitative, essentiellement basée sur la description des positions relatives des compartiments du réseau (à partir des signaux isotopiques du carbone et de l'azote), à une approche quantitative, employant des métriques caractérisant la structure et le fonctionnement de l'ensemble du réseau (Schmidt *et al.*, 2007). La longueur de chaîne trophique calculée avec les isotopes stables de l'azote permet alors de tester les trois déterminants, majoritairement cités pour expliquer les variations du réseau trophique (e.g. Vander Zanden & Rasmussen, 1999) : la disponibilité des ressources, la stabilité de l'écosystème et la taille de l'écosystème. Parallèlement, le développement de modèles de mélange de plus en plus complexes (Phillips, 2001 ; Phillips & Koch, 2002 ; Phillips & Gregg, 2003 ; Phillips *et al.*, 2005 ; Moore & Semmens, 2008 ; Jackson *et al.*, 2009 ; Parnell *et al.*, 2010) permet de quantifier les contributions relatives des différentes sources de matière organique au fonctionnement du réseau trophique. Plus récemment, d'autres métriques portant sur la structure du réseau et sur la niche trophique (Bearhop *et al.*, 2004 ; Layman *et al.*, 2007a ; Newsome *et al.*, 2007), intégrant à la fois la diversité des niveaux trophiques, mesurée avec la FCL, et l'hétérogénéité des sources de matière organique, abordée essentiellement par les modèles de mélange, sont venues compléter la panoplie d'outils permettant de quantifier la structure et le fonctionnement du réseau trophique. Le développement de ces nouveaux outils a offert la possibilité de tester quantitativement, et non plus seulement qualitativement, les déterminants potentiels du réseau trophique (Layman *et al.*, 2011).

Pour tester ces hypothèses, les cours d'eau constituent un type d'écosystème idéal, car ils présentent une large variabilité de ressources, de taille et de nature ou niveau de perturbations, parfois au sein d'un même bassin versant (MacHugh *et al.*, 2010). D'ailleurs six des treize études recensées par Takimoto & Post (2012) concernent des cours d'eau. Même si le nombre d'études abordant les réseaux trophiques par le biais des isotopes stables augmentent rapidement depuis ces dernières années (en 2010 il y a eu plus de 150 publications sur le sujet, alors qu'il y en avait moins d'une cinquantaine au début des années 2000, Layman *et al.*, 2011), les études portant sur une partie substantielle du réseau trophique restent rares, puisque la plupart se focalisent uniquement sur les variations des relations trophiques d'un nombre restreint d'espèces ou de taxons (un à trois). Par ailleurs, comme le soulignent Dufour & Gerdeaux (2001), les isotopes stables restent encore peu employés par les ichtyologistes européens (un seul des 46 cours d'eau recensés par Vander Zanden & Fetzer (2007) est européen). Dans ce contexte, l'objectif de mon travail était d'étudier l'organisation trophique des cours d'eau européens via l'exemple de deux rivières françaises, l'Orge et le Bez. Plus particulièrement, trois questions principales ont été abordées : (1) influence du gradient amont-aval sur le réseau trophique ; (2) variations de la chaîne trophique en fonction de la variabilité thermique des cours d'eau ; et (3) effet de l'occupation des sols sur le réseau trophique, via son influence supposée sur la diversité des sources de matière organique disponibles.

Développements méthodologiques

Parallèlement à ces questions centrales, qui concernent l'écologie des cours d'eau, des développements d'ordre méthodologique ont également été réalisés. L'étude des relations entre signaux isotopiques du muscle dorsal et des nageoires de poissons (Hette-Tronquart *et al.*, 2012a) a confirmé la possibilité d'utiliser les nageoires comme un substitut du muscle, permettant ainsi d'éviter le sacrifice des individus échantillonnés. Ce travail méthodologique complète les relations déjà disponibles pour des poissons tropicaux, nord-américains ou appartenant à la famille des salmonidés, par des relations spécifiques à douze espèces communes en Europe. Cette étude a également permis d'établir deux modèles linéaires généraux⁹ (pour le carbone et l'azote), reliant les signaux isotopiques des muscles et des nageoires. En revanche, elle a montré qu'il demeure peu probable que l'on puisse développer des modèles valables à l'échelle mondiale, pour toutes les espèces de poissons : les différences entre les différentes zones climatiques (par exemple, entre zones tempérée et tropicale) semblent trop importantes. Il reste donc à tester les limites géographiques de l'application des relations proposées : sont-elles valables uniquement sur le bassin versant de la Seine, dont est issue la majorité des poissons prélevés pour notre étude Ou sont-elles valables sur l'ensemble de la France, voire du continent européen En outre, la validité des modèles généraux, initialement testée pour quatorze espèces, pourrait aussi être étendue à d'autres espèces fréquemment rencontrées en Europe.

9. Modèles généraux, car valables pour quatorze espèces de poissons en Europe.

Par ailleurs, la qualité des analyses isotopiques a confirmé la fiabilité de la configuration « simple four » que j'ai mise en œuvre, et qui reste encore peu employée, malgré la faible quantité de matière nécessaire aux analyses. Cet élément est pourtant déterminant pour analyser des compartiments biologiques souvent peu abondants, difficiles à échantillonner, et présentant parfois des enjeux en termes de conservation de la biodiversité. La chaîne de correction, adoptée pour réduire les erreurs analytiques, a également prouvé sa pertinence. La précision analytique des signaux, bien que tout à fait comparables aux précisions affichées dans le cadre d'autres travaux relatifs aux organismes aquatiques (Jardine *et al.*, 2012), pourrait cependant encore être améliorée en utilisant la nouvelle interface ConfloIV couplant l'analyseur élémentaire au spectromètre de masse, car elle ajuste automatiquement l'amplitude des pulses de référence à celle des pics de l'échantillon, ce qui permettrait d'éliminer la correction de linéarité. Éventuellement, une calibration à deux points peut être envisagée pour les signaux isotopiques du carbone, mais la précision analytique pour cet élément est déjà très bonne (0,15 ‰, meilleure que celle obtenue pour l'azote).

Influence déterminante du gradient longitudinal

La première question abordée concerne le gradient amont-aval, car il constitue une caractéristique fondamentale des cours d'eau (Petts & Calow, 1996). S'il est reconnu que les changements longitudinaux des propriétés physiques et des communautés biologiques qui y sont associées, peuvent entraîner des modifications du fonctionnement des réseaux trophiques (Woodward *et al.*, 2005c), très peu d'études ont examiné en détail ces variations (Power & Dietrich, 2002). Par exemple, cela fait plus de trente ans que le River Continuum Concept (RCC) existe et décrit un changement des communautés de macroinvertébrés avec la disponibilité des sources allochtones et autochtones de matière organique de l'amont à l'aval d'un cours d'eau (Vannote *et al.*, 1980). Or, le nombre d'études¹⁰ examinant les contributions relatives de la matière organique aquatique et terrestre au fonctionnement du réseau trophique est encore limité (Leberfinger *et al.*, 2011 ; Hladyz *et al.*, 2011), et il est encore plus restreint (une seule étude, dont la leur, selon Romanuk *et al.*, 2006), lorsqu'il s'agit d'aborder cette question le long du gradient amont-aval, au sein d'un même bassin versant. Récemment, deux nouvelles études, utilisant, entre autre, une analyse basée sur les isotopes stables, viennent s'ajouter à l'étude de Romanuk *et al.* (2006). L'étude de Winemiller *et al.* (2011) a porté sur une rivière tropicale d'Amérique centrale et montre que, conformément au RCC, le réseau trophique utilise principalement des sources allochtones de matière organique à l'amont, et que la contribution des algues est plus importante à l'aval, lorsqu'il y a plus de lumière. L'étude de Chang *et al.* (2012), portant sur une rivière subtropicale, rapporte également que l'exploitation des ressources par le réseau trophique dépend de leur disponibilité : comme le prédit le RCC, c'est d'abord la matière organique allochtone (végétation rivulaire en C3) qui prédomine à l'amont, puis la matière organique autochtone (périphyton) devient

10. Il s'agit ici de tous les types d'études et pas seulement des études employant les isotopes stables.

prépondérante, avant que la matière organique allochtone (végétation rivulaire en C4) ne prenne le relais à l'aval. En revanche, selon ces deux études, les variations des contributions relatives des différentes sources de matière organique ne semblent pas affecter en profondeur le fonctionnement du réseau trophique, car les variations observées de longueur de chaîne trophique (FLC) ne sont pas liées au gradient amont-aval. En l'état actuel des connaissances empiriques, il semble donc avéré que le gradient amont-aval ait une influence sur les sources de matière organique exploitées par le réseau trophique. De même, plusieurs études (Hoeinghaus *et al.*, 2007 ; Ibañez *et al.*, 2007 ; Winemiller *et al.*, 2011) donnent la preuve que la structure du peuplement de poisson évolue le long du gradient amont-aval, passant d'un peuplement dominé par les espèces invertivores à l'amont, à un peuplement plus riche en espèces à l'aval, en raison de l'apparition d'espèces omnivores et piscivores. Ces modifications laissent supposer des différences de fonctionnement du réseau trophique, même si les mesures de FCL de Winemiller *et al.* (2011) ; Chang *et al.* (2012) n'ont rien révélé de tel. L'étude concernant le gradient amont-aval sur le bassin versant de l'Orge (Hette-Tronquart *et al.*, 2012c) a donc apporté la première validation empirique de l'influence du gradient sur le fonctionnement du réseau trophique. Utilisant pour la première fois une autre métrique que la FCL, en l'occurrence l'aire de la niche trophique isotopique (AITN), elle a montré que le gradient amont-aval influence positivement et significativement l'AITN occupée par l'assemblage de poissons. De plus, cette étude a précisé que cette influence est le résultat d'un effet direct et positif du gradient amont-aval qui compense un effet indirect et négatif via la richesse spécifique de l'assemblage de poissons. Développant également une nouvelle métrique qui permet de mesurer le chevauchement des niches trophiques spécifiques (AITN_{ove}), l'étude du gradient amont-aval a expliqué l'accroissement de l'AITN le long du gradient, par la spécialisation des espèces sur des régimes trophiques de plus en plus différents (réduction du chevauchement, augmentation de la distance inter-niche) et non par la présence d'espèces généralistes accroissant chacune leur régime trophique. Il faut noter que ces résultats ont été obtenus pour un gradient longitudinal assez restreint (distance maximale à la source de 26,5 km, surface maximale du bassin versant amont de 210 km² et largeur maximale du cours d'eau de 7 m). Ainsi, il est probable que la considération d'un gradient amont-aval plus important entraîne des modifications de l'effet indirect via la richesse spécifique¹¹. En revanche, cela montre également que l'effet du gradient amont-aval agit déjà pour des bassins versants de petite taille. Ces résultats, même s'ils restent à confirmer par des études portant sur des bassins versants d'autres régions climatiques, apportent la preuve que le gradient amont-aval influence le fonctionnement des réseaux trophiques. En conséquence, chaque étude portant sur le fonctionnement du réseau trophique des cours d'eau devrait commencer par examiner l'influence du gradient amont-aval, sous peine de voir les effets d'autres paramètres environnementaux confondus par l'influence de ce même gradient.

11. On suspecte qu'un plus long gradient amont-aval fera intervenir plus d'espèces piscivores, susceptibles d'augmenter l'AITN.

Importance du régime thermique

La deuxième hypothèse porte sur l'influence de la variabilité thermique. Après avoir examiné l'influence du gradient amont-aval, en tant que caractéristique structurante des cours d'eau, j'ai étudié les déterminants du réseau trophique. La question des déterminants du réseau trophique n'est pas nouvelle et intéresse les écologistes depuis longtemps (Elton, 1927 ; Hutchinson, 1959 ; Pimm, 1982 ; Schoener, 1989). Pour des raisons pratiques, elle s'est traduite concrètement par la recherche des facteurs environnementaux expliquant la longueur de chaîne trophique. Depuis quelques années (Sabo *et al.*, 2009), il existe un consensus pour focaliser les recherches sur trois déterminants principaux : la disponibilité des ressources, la stabilité de l'écosystème et la taille de l'écosystème. À l'heure actuelle, il semble que la disponibilité des ressources et la taille de l'écosystème influencent positivement la longueur de chaîne trophique (Takimoto & Post, 2012). En revanche, il n'existe pas de consensus concernant la stabilité des écosystèmes, même si (MacHugh *et al.*, 2010) ont montré que la stabilité des écosystèmes a pour effet d'allonger la longueur des chaînes trophiques. Le travail de MacHugh *et al.* (2010) est particulièrement intéressant, car il aborde la stabilité des écosystèmes pour la première fois sous un angle multifactoriel, et non sous le seul angle de l'hydrologie ou de la stabilité des substrats, comme c'était communément le cas. Pour ce faire, MacHugh *et al.* (2010) intègrent la variabilité hydrologique (hauteur d'eau), la stabilité du substrat (score de Pfankuch) et la variabilité thermique (température de l'eau) dans leur indice de stabilité. Alors que MacHugh *et al.* (2010) observent un effet de la stabilité de l'écosystème, d'autres études considérant uniquement la stabilité hydrologique (Walters & Post, 2008) ou la stabilité du substrat (Townsend *et al.*, 1998) ne trouvent pas d'effet significatif de la stabilité sur les longueurs de chaîne. En conséquence, il est légitime de penser que la variabilité thermique est susceptible de jouer un rôle prépondérant dans l'influence de la stabilité de l'écosystème sur la longueur de chaîne trophique. À ma connaissance, l'étude de l'influence de la variabilité thermique (Hette-Tronquart *et al.*, 2012b) est la première à tester et montrer que la variabilité thermique seule (mesurée par les variations annuelles de température de l'eau) peut influencer la longueur de chaîne trophique. Utilisant cinq sites répartis suivant un gradient de stabilité thermique, en lien avec leur géologie, cette étude montre que les sites les plus stables thermiquement possèdent une chaîne trophique plus longue. De plus, ré-analysant les données publiées par MacHugh *et al.* (2010), j'ai montré qu'il existe une relation significative entre stabilité thermique et longueur de chaîne trophique, qui semble pouvoir s'appliquer à des cours d'eau pourtant très distants (France — Nouvelle-Zélande). Selon cette relation, la longueur de chaîne trophique diminue de 0,8 niveaux trophiques, lorsque le coefficient de variation de la température augmente de 0,02 (température pratiquement constante au cours du temps) à 0,61 (température variant par exemple de 0 à 20 °C sur une année). A titre de comparaison, Woodward *et al.* (2010b) ont montré que la longueur de chaîne trophique augmente de 0,6 niveaux trophiques, lorsque la température de l'eau augmente de 6,8 à 23,5 °C. En situation naturelle, la diminution de la longueur de chaîne trophique due à la variabilité thermique, est donc du même ordre de grandeur, que son augmentation observée lors d'une augmentation de température consécutive. Ce tra-

vail a donc apporté un nouveau soutien à l'hypothèse de stabilité de l'écosystème comme déterminant du réseau trophique, montrant que la variabilité thermique seule peut réduire significativement la longueur de chaîne trophique. Dans le même temps, il a aussi montré que l'effet de la température de l'eau sur le réseau trophique ne se limite pas à un effet « positif » de sa valeur moyenne : il existe également un effet « négatif » de la variabilité temporelle de la température de l'eau, dont l'ordre de grandeur pourrait être au moins aussi important. Dans le contexte du changement climatique, qui entraînera non seulement un réchauffement général mais aussi certainement une augmentation de la variabilité thermique de nombreux cours d'eau tempérés (Walther, 2010 ; Woodward *et al.*, 2010c), ces résultats suggèrent que l'altération future du fonctionnement des réseaux trophiques aquatiques peut se traduire par une augmentation de la longueur de chaîne trophique — si l'effet du réchauffement est dominant — comme cela est généralement envisagé (Sabo *et al.*, 2009) ou inversement — si l'effet de la variabilité thermique est dominant — par une réduction de la longueur de chaîne trophique. Il reste donc à examiner simultanément les effets contradictoires d'une augmentation de la température de l'eau et d'une augmentation de sa variabilité sur le fonctionnement du réseau trophique, pour savoir quel effet est prédominant. Ce résultat pourra également être étayé par des études complémentaires portant en particulier sur des cours d'eau d'autres zones climatiques (tropicales, équatoriales) permettant de tester des amplitudes thermiques plus conséquentes, qui pourraient correspondre aux régimes thermiques futurs des cours d'eau tempérés. Enfin, dans la perspective du changement climatique, il semble intéressant d'étendre ce résultat à d'autres types d'écosystème (marin, lacustre, terrestre).

Influence de l'occupation des sols sur le bassin versant et à proximité du cours d'eau

La troisième hypothèse traite de l'impact de l'occupation des sols sur les sources de matière organique exploitées et sur l'organisation du réseau trophique et envisage donc implicitement l'influence plus directe et immédiate des activités humaines sur les écosystèmes. La question des sources de matière organique exploitées par un taxon ou par l'ensemble du réseau trophique est l'une des premières à avoir été testée avec les isotopes stables (e.g. Rounick *et al.*, 1982). Cependant, la plupart des études se limitent à déterminer le régime alimentaire d'un nombre restreint d'espèces, en précisant, par exemple, les parts relatives des différentes sources de matière organique : provenant du milieu marin ou estuarien (Bardonnet & Riera (2005) pour l'anguille, Jardine *et al.* (2005a) pour les salmonidés), variant suivant les saisons (Oliveira *et al.*, 2006), variant suivant le stade de développement des individus (Grey *et al.*, 2001) ou utilisant les différences de signaux isotopiques entre sources de matière organique pour estimer les déplacements d'individus (Rasmussen *et al.*, 2009). Il y a donc peu d'études qui examinent l'influence d'une utilisation différente des sources de matière organique sur le fonctionnement du réseau trophique aquatique (Leberfinger *et al.*, 2011). Dans le cas des cours d'eau, les sources de matière organique ont principalement deux origines (aquatique ou terrestre) et leur dis-

ponibilité dépend en grande partie de la végétation rivulaire (Hladyz *et al.*, 2009 ; Quinn *et al.*, 1997). L'occupation des sols est donc intimement liée à la question des sources de matière organique. Actuellement, il existe encore peu d'études portant spécifiquement sur les effets de l'occupation des sols sur le fonctionnement des réseaux trophiques lotiques (Crane *et al.*, 2011), mais il semble que ces effets se produisent principalement à deux échelles spatiales : à l'échelle régionale du bassin versant et à l'échelle locale du corridor fluvial (Allan *et al.*, 1997). À l'échelle régionale, l'occupation des sols modifie également le fonctionnement du réseau trophique. L'agriculture intensive pratiquée sur un bassin versant entraîne souvent une contamination diffuse des cours d'eau par des pesticides et des nutriments, qui conduisent aux phénomènes de bio-accumulation et d'eutrophisation, provoquant des changements considérables des communautés biologiques et du réseau trophique (Woodward & Hildrew, 2002). Selon Allan *et al.* (1997), l'agriculture s'accompagne également d'une modification des caractéristiques physiques et hydrauliques des cours d'eau (drainage, canalisation, rectification des berges) qui augmentent la variabilité des débits, tout en réduisant l'hétérogénéité de l'habitat et donc le nombre de zones de refuge, ce qui peut aussi modifier considérablement les communautés biologiques et donc le réseau trophique (Wootton *et al.*, 1996). A l'échelle locale, la présence ou l'absence de la ripisylve influence fortement l'exploitation des sources de matière organique par le réseau trophique : d'une manière générale, le réseau trophique tire son énergie des sources de matière organique allochtone, en présence de ripisylve et exploite des sources de matière organique autochtone (ou un mélange autochtone + allochtone) en l'absence de ripisylve (Hicks, 1997 ; Maridet *et al.*, 1998). Si certaines études concluent que les consommateurs tirent essentiellement leur énergie de la matière organique autotrophe (Bilby & Bisson, 1992 ; Watson & Barmuta, 2011), d'autres affirment au contraire que la litière allochtone est la source dominante d'énergie quel que soit le type d'occupation des sols (Woodward *et al.*, 2005c ; Leberfinger *et al.*, 2011). Ces observations contradictoires peuvent s'expliquer par le fait que les contributions des différentes sources varient considérablement entre micro-habitats (Zeug & Winemiller, 2008). Elles montrent également la complexité de la question des sources de matière organique. Actuellement, l'articulation des deux échelles sur l'influence de l'occupation des sols reste peu comprise (Allan *et al.*, 1997), c'est pourquoi la troisième question a été abordée à ces deux échelles. Après avoir intégré l'effet du gradient amont-aval (cf. recommandation de Hette-Tronquart *et al.*, 2012c), j'ai pu montrer que l'occupation des sols à l'échelle régionale et locale influence la diversité des sources de matière organique exploitée par le réseau trophique. En revanche, les différences de fonctionnement du réseau trophique dues à l'occupation des sols n'ont pas pu être reliées à des exploitations différentes des sources de matière organique, indiquant que l'occupation des sols peut également influencer le fonctionnement du réseau trophique, sans pour autant impliquer une modification des sources de matière organique. En accord avec Allan *et al.* (1997), l'influence de l'occupation des sols sur le réseau trophique est significative aux deux échelles (locale et régionale) mais différente suivant l'échelle considérée. À l'échelle régionale, l'occupation des sols semble jouer sur la disponibilité des ressources, tandis qu'à l'échelle locale, l'effet de l'occupation des sols semble lié à une perte de stabilité de l'écosystème. L'articulation des deux échelles semble donc com-

plexe et cette étude n'a pas permis de déterminer si l'une des échelles était prédominante. Par ailleurs, les résultats de cette étude suggèrent que les réseaux trophiques exploitent essentiellement des sources de matière organique allochtone provenant de la végétation rivulaire, quels que soient le type d'occupation des sols et l'échelle spatiale considérée (en accord avec Leberfinger *et al.*, 2011). Les sources de matière organique prélevées pour cette étude n'ont malheureusement pas permis d'utiliser des modèles de mélange pour étayer cette hypothèse. Enfin, l'impact des zones agricoles correspond à nos hypothèses de départ : à l'échelle régionale, les zones agricoles ont un effet « positif » sur le réseau trophique, augmentant la quantité de nutriments entrant dans le cours d'eau, tandis qu'à l'échelle locale, les zones agricoles auraient un effet « négatif », via une augmentation de la variabilité thermique et hydraulique.

Pour aller plus loin dans la détermination des sources de matière organique exploitées par le réseau trophique, il avait été envisagé, à l'origine de mon travail de thèse, d'examiner les variations saisonnières du fonctionnement de quatre réseaux trophiques. L'objectif était de quantifier les contributions relatives des différentes sources de matière organique au fonctionnement du réseau trophique, en procédant à un échantillonnage beaucoup plus détaillé, pour pouvoir mettre en œuvre efficacement des modèles de mélange. L'hypothèse sous-jacente de cette étude supposait que le fonctionnement du réseau trophique, et en particulier les sources de matière organique qu'il exploite, dépendent de la saison (ensoleillement, luminosité, température et stade de développement différent suivant la saison) et de la végétation rivulaire (présence/absence de ripisylve). Plus précisément, cela permettrait de tester si les réseaux trophiques des cours d'eau dépendent principalement de la matière organique allochtone, ou si la matière organique d'origine aquatique est aussi utilisée et en quelle proportion. Pour ce faire, quatre sites, ayant la même position sur le gradient amont-aval, mais disposés suivant un gradient de végétation rivulaire (de l'absence totale de ripisylve à une couverture complète du cours d'eau), ont été échantillonnés avant et après l'émergence, puis avant et après la chute des feuilles, ces deux événements (émergence et chute des feuilles) déterminant la disponibilité de la matière organique autochtone et allochtone (Hill & Dimick, 2002). En complément des signaux isotopiques du carbone et de l'azote qui ont été analysés sur l'ensemble des échantillons, les signaux isotopiques de l'hydrogène ont été mesurés sur une partie des échantillons afin d'aider à déterminer l'origine terrestre ou aquatique des sources de matière organique (Doucett *et al.*, 2007). L'utilisation de modèles de mélange bayésiens (Parnell *et al.*, 2010) devrait permettre de clarifier les sources de matière organique, et l'emploi des statistiques circulaires (Schmidt *et al.*, 2007) est envisagé pour quantifier l'évolution du fonctionnement du réseau trophique. L'exploitation des résultats obtenus encore insuffisante à ce stade n'a pas pu être présentée dans le cadre de ce travail, mais fera l'objet d'une publication future.

Limites et difficultés d'utilisation des isotopes stables

Les isotopes stables ont été et sont encore un outil prometteur pour l'étude des réseaux trophiques. Cependant, le développement des recherches et des techniques les employant ont également révélé leurs limites (variabilité des signaux isotopiques à la base du réseau trophique, difficulté de distinction isotopique des sources de matière organique, variabilité du fractionnement isotopique). Il est ainsi acquis depuis longtemps, que les isotopes stables ne peuvent pas se substituer à l'étude des contenus stomacaux pour aborder précisément le régime alimentaire d'un individu. De même, il semble illusoire de vouloir utiliser les isotopes stables pour déterminer exactement les transferts de matière existant entre les sources de matière organique et les consommateurs primaires (seule une approche multiple combinant analyse des contenus stomacaux, des isotopes stables et des acides gras semble pouvoir répondre à cette question, Pitt *et al.*, 2009). Cependant, la principale difficulté d'utilisation des isotopes stables pour l'étude des réseaux trophiques repose, selon moi, sur l'échantillonnage. Échantillonner implique de choisir les compartiments du réseau trophique qui seront étudiés. Penser pouvoir analyser la totalité du réseau trophique est utopique (Drouin, 1984), même si des années d'effort peuvent permettre d'atteindre des niveaux de description très poussés (l'exemple le plus emblématique est celui du réseau trophique de Broadstone Stream en Angleterre, Woodward *et al.*, 2005b). En effet, le compartiment du microscopiquement petit (bactéries, algues, champignons) change beaucoup trop rapidement dans l'espace et dans le temps pour pouvoir être échantillonné et inversement les super-prédateurs (comme les oiseaux) sont tellement mobiles qu'il faudrait considérer une échelle spatiale beaucoup plus grande pour pouvoir les intégrer au réseau trophique. Le grand écart entre ces deux compartiments semble ainsi impossible à réaliser. Il faut donc choisir ce qui fait partie du réseau trophique, sachant que cela influence les résultats observés. Lors des deux campagnes de prélèvements réalisées, deux approches différentes ont été développées : (1) un échantillonnage basé sur des taxons cibles et (2) un échantillonnage représentatif des taxons de poissons et de macroinvertébrés benthiques. La différence fondamentale entre ces deux approches repose sur le constat suivant : les différences de fonctionnement du réseau trophique peuvent être dues à une modification des régimes alimentaires des taxons présents dans le réseau ou à l'apparition de nouveaux taxons dans le réseau, étant entendu que l'apparition d'un nouveau taxon engendre le plus souvent une modification des régimes alimentaires des autres taxons. L'idée de la première approche consiste alors à observer les modifications de fonctionnement du réseau trophique liées à la modification des régimes alimentaires de taxons cibles communs à tous les sites étudiés. Cet échantillonnage n'est donc pas représentatif des communautés biologiques présentes sur les sites et ne prend pas directement en compte les modifications du fonctionnement du réseau liées à l'apparition de nouveaux taxons, puisque ceux-ci ne sont pas échantillonnés. En revanche, on suppose que les différences de régime alimentaire des taxons cibles refléteront également les différences de communauté biologique. Cette approche permet d'éviter les problèmes de comparabilité des réseaux trophiques entre sites, liés à des échantillonnages différents, et permet de limiter l'effort d'un échantillonnage qui ne peut être que partiel. La deuxième approche, au contraire,

tente de prendre en compte les différences de fonctionnement du réseau trophique liées à la fois aux modifications des régimes alimentaires et à l'apparition de nouveaux taxons dans le réseau trophique. La comparabilité des réseaux trophiques est alors assurée par le fait que les différences de communautés biologiques observées entre sites ne sont pas dues à des artefacts d'échantillonnage, mais bien à des différences de peuplements. Cette approche demande alors un effort d'échantillonnage beaucoup plus soutenu, ce qui entrave son application à grande échelle. Enfin, l'un des points faibles de l'échantillonnage des réseaux trophiques actuellement, concerne sans aucun doute l'échantillonnage des sources de matière organique. La plupart des études regroupent ces sources dans des catégories grossières (« algues », « biofilms », « meiofaune », ...), reposant sur des similitudes trophiques supposées (Woodward *et al.*, 2005c). Une description plus détaillée de ces sources est certainement nécessaire à la compréhension des transferts de matière organique se déroulant à la base du réseau trophique.

Implications concernant les déterminants immédiats et ultimes modifiant la structure des réseaux trophiques

Au-delà des réponses aux questions spécifiques détaillées ci-dessus, ce travail de thèse constitue également une contribution aux débats actuels concernant les déterminants *immédiats* et *ultimes* qui modèlent la structure des réseaux trophiques.

Par déterminants *immédiats*, on fait référence aux mécanismes directs impliqués dans la modification de la structure des réseaux trophiques. Ils font appel, d'une part, à une modification des espèces présentes au sein de l'écosystème (arrivée de super-prédateur ou d'espèces s'intercalant dans la chaîne trophique), ou d'autre part, à une modification de la position trophique d'une (ou plusieurs) espèce(s) (via la modification de son régime alimentaire), qui peut se propager à l'ensemble du réseau trophique. Si la première famille de mécanismes (modification de la composition en espèces, mécanismes d'*insertion* ou d'*addition*) est sans doute l'explication la plus immédiatement invoquée, mes trois études de cas montrent que la seconde famille de mécanismes (déplacement de la niche trophique des espèces, mécanismes d'*omnivorie*) a aussi une place déterminante pour expliquer des modifications dans le réseau trophique du cours d'eau.

Par déterminants ultimes, on entend les facteurs généraux contrôlant le réseau trophique. Ces facteurs se répartissent actuellement selon 3 hypothèses majeures et non exclusives : (1) la *disponibilité des ressources*, (2) la *variabilité de l'écosystème* et (3) la *taille de l'écosystème*. Mon travail sur le gradient longitudinal, mettant en lumière une complexification du réseau trophique vers l'aval, valide, au moins en apparence, l'influence de la *taille de l'écosystème*. Il met également en lumière l'importance de la *disponibilité des ressources*, dans la mesure où l'influence du gradient longitudinal sur le réseau trophique semble en partie le résultat d'une diversification des ressources exploitées. Le travail mené sur le bassin du Bez conforte l'hypothèse de l'influence de la *stabilité des écosystèmes*, en montrant

une relation négative entre la longueur de chaîne trophique et la variabilité temporelle de la température de l'eau. Ce résultat est d'autant plus intéressant que l'effet de la *stabilité des écosystèmes* sur les réseaux trophiques ne fait pas consensus à ce jour. Le travail portant sur l'occupation des sols témoigne logiquement de l'importance de la *disponibilité des ressources* dans la structuration des réseaux trophiques. Au-delà, certaines différences s'expliqueraient aussi par l'effet de l'occupation des sols sur la *stabilité des écosystèmes* et l'hétérogénéité des habitats.

Perspectives de recherche

Sur un plan « théorique », les perspectives immédiates visent à poursuivre le travail entrepris sur les déterminants de la structure des réseaux trophiques, en élargissant les gradients environnementaux pris en compte et, le cas échéant, en confrontant les résultats à ceux obtenus sur d'autres écosystèmes (écosystèmes tropicaux, par exemple). Une des questions est notamment de savoir si les relations mises en évidence ont une portée locale, ou au contraire s'inscrivent dans une tendance qui peut être généralisée (comme par exemple le lien qui se dégage entre la longueur de chaîne trophique et la variabilité thermique). Les questions de l'influence de la thermie et de l'effet de la stabilité des écosystèmes, qui font largement débat aujourd'hui, ainsi que leur imbrication respective, sont sans doute des pistes à privilégier. L'articulation des déterminants du réseau trophique avec la richesse spécifique constitue également une perspective intéressante, car elle n'est que marginalement étudiée, et peut donner lieu à des résultats inattendus, comme l'a montré l'étude sur le gradient longitudinal. Une autre question, abordée pour partie dans la thèse, mais qui reste largement à approfondir, concerne l'origine (aquatique ou terrestre) de la matière organique nécessaire au fonctionnement des cours d'eau. Pour répondre à cette question, l'approche isotopique présente certaines limites déjà évoquées précédemment (faible contraste du marquage naturel des deux types de sources de matière organique, travail sur des compartiments — litière, biofilm, matières en suspension — qui sont en fait des compartiments composites). En complément, le recours à d'autres types d'approches telles que l'utilisation de bio-marqueurs de la matière organique que représentent les acides gras (Dalsgaard *et al.*, 2003 ; Meziane *et al.*, 2007) est sans doute incontournable pour aborder pleinement cette question.

Sur un plan « appliqué », l'impact des pressions anthropiques sur le fonctionnement des réseaux trophiques lotiques a été abordé essentiellement dans la partie consacrée à l'influence de l'occupation des sols. Pourtant, il s'agit d'une question incontournable, si on veut utiliser les réseaux trophiques dans une perspective d'évaluation ou de gestion des écosystèmes. Trois pistes principales peuvent être identifiées. Premièrement, les réseaux trophiques peuvent être utilisés pour développer des indicateurs de l'état fonctionnel des écosystèmes : la DCE demande effectivement d'évaluer l'état écologique des cours d'eau, concept qui recouvre à la fois des notions de structure des communautés vivantes et de fonctionnement des écosystèmes. Actuellement, la totalité des outils mis en place s'inté-

ressent à la structure des communautés, les questions fonctionnelles étant abordées de manière indirecte par le biais des traits biologiques et écologiques des espèces¹². Or, cette démarche, basée sur une définition fixe et a priori de la position fonctionnelle des espèces, ne peut répondre que de manière très imparfaite à la question de la caractérisation du fonctionnement d'un écosystème. En ce qui concerne le fonctionnement trophique, on a vu en effet qu'une grande partie des modifications des chaînes trophiques était liée à la plasticité du positionnement trophique des espèces d'un site à l'autre. Dans ce contexte les analyses isotopiques et les métriques qui en dérivent fournissent des outils qui rendent compte directement du fonctionnement trophique des systèmes et qui peuvent contribuer, en complément des bio-indicateurs classiques, à la qualification de l'état des écosystèmes. A titre d'exemple, on peut se reporter au travail de Layman *et al.* (2007b), qui montrent une forte réduction de la niche trophique (évaluée sur la base des isotopes stables) d'un poisson prédateur dans des milieux fortement perturbés par l'homme. Deuxièmement, l'étude des liens entre pressions humaines et structures des réseaux trophiques est un prérequis, pour comprendre comment les mesures de gestion doivent être conduites afin d'améliorer la structure et le fonctionnement du réseau trophique d'un cours d'eau. Cette piste reste cependant largement ouverte aux débats, dans la mesure où il n'existe pas de consensus sur ce que devrait être le fonctionnement optimal d'un réseau trophique. Troisièmement, la compréhension des réseaux trophiques devient de plus en plus indispensable à l'écotoxicologie : les niveaux de contamination des organismes par les xénobiotiques dépendent en effet largement de leur position dans le réseau trophique. L'utilisation des isotopes stables, clarifiant les liens trophiques entre espèces, permet ainsi de mieux appréhender les voies de contamination, voire d'évaluer les risques pour l'écosystème ou la consommation humaine (Lopes *et al.*, 2011). Le bassin de la Seine, dans le cadre du programme PIREN-Seine, constitue sans doute un lieu privilégié pour aborder ces questions. Les organismes y sont soumis à de multiples sources de contamination, parfois très importantes, et plusieurs équipes de recherche interviennent sur ce bassin, menant un travail interdisciplinaire concernant la géochimie, les sources de matières organiques et de micropolluants, l'écotoxicologie et l'écologie des organismes aquatiques.

12. Par exemple, utilisation des guildes trophiques des espèces de poissons ou d'invertébrés.

Bibliographie

- Abdoli, A., Pont, D. & Sagnes, P. (2007). Intrabasin variations in age and growth of bullhead : The effects of temperature. *Journal of Fish Biology* **70**, 1224–1238.
- Allan, J. (2004). Landscapes and riverscapes : The influence of land use on stream ecosystems. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **35**, 257–284.
- Allan, J., Erickson, D. & Fay, J. (1997). The influence of catchment land use on stream integrity across multiple spatial scales. *Freshwater Biology* **37**, 149–161.
- Amoros, C. & Petts, G. (eds.) (1993). *Hydrosystèmes fluviaux*. Masson, Paris.
- Anderson, C. & Cabana, G. (2005). $\delta^{15}\text{N}$ in riverine food webs : Effects of N inputs from agricultural watersheds. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **62**, 333–340.
- 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.
- Arim, M., Abades, S., Laufer, G., Loureiro, M. & Marquet, P. (2010). Food web structure and body size : Trophic position and resource acquisition. *Oikos* **119**, 147–153.
- Arim, M., Marquet, P. & Jaksic, F. (2007). On the relationship between productivity and food chain length at different ecological levels. *American Naturalist* **169**, 62–72.
- Barbault, R. (1983). *Abrégé d'écologie générale*. Masson, Paris.
- Barbault, R. (2008). *Écologie générale. Structure et fonctionnement de la biosphère*. Dunod, Paris, 6e edn.
- Barbour, C.D. & Brown, J.H. (1974). Fish species diversity in lakes. *The American Naturalist* **108**, 473–489.
- Bardonnet, A. & Riera, P. (2005). Feeding of glass eels (*anguilla anguilla*) in the course of their estuarine migration : new insights from stable isotope analysis. *Estuarine Coastal and Shelf Science* **63**, 201–209.
- Bearhop, S., Adams, C., Waldron, S., Fuller, R. & Macleod, H. (2004). Determining trophic niche width : A novel approach using stable isotope analysis. *Journal of Animal Ecology* **73**, 1007–1012.

- Bilby, R. & Bisson, P. (1992). Allochthonous versus autochthonous organic matter contributions to the trophic support of fish populations in clear-cut and old-growth forested streams. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **49**, 540–551.
- Blann, K., Anderson, J., Sands, G. & Vondracek, B. (2009). Effects of agricultural drainage on aquatic ecosystems : A review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* **39**, 909–1001.
- Bott, T.L., Newbold, J.D. & Arscott, D. (2006). Ecosystem metabolism in piedmont streams : reach geomorphology modulates the influence of riparian vegetation. *Ecosystems* **9**, 398–421.
- Cabana, G. & Rasmussen, J. (1994). Modelling food chain structure and contaminant bioaccumulation using stable nitrogen isotopes. *Nature* **372**, 255–257.
- 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.
- Campbell, I., James, K., Hart, B. & Devereaux, A. (1992). Allochthonous coarse particulate organic material in forest and pasture reaches of two south-eastern australian streams. i. litter accession. *Freshwater Biology* **27**, 341–352.
- Carey, M. & Wahl, D. (2011). Determining the mechanism by which fish diversity influences production. *Oecologia* **167**, 189–198.
- 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* .
- Christophe, S., Silvestre, M. & Billen, G. (2006). Aipreshume : Atlas interactif des pressions humaines sur le bassin de la seine. Tech. rep., Piren-Seine.
- Cohen, J. & Newman, C. (1991). Community area and food-chain length : theoretical predictions. *American Naturalist* **138**, 1542–1554.
- Crane, D., Johengen, T. & Allan, J. (2011). Assessment of quantitative food web metrics for investigating the influence of land use on warm water fish diets. *Hydrobiologia* **664**, 1–15.
- Cummins, K.W., Wilzbach, M.A., Gates, D.M., Perry, J.B. & Taliaferro, W.B. (1989). Shredders and riparian vegetation : leaf litter that falls into streams influences communities of stream invertebrates. *BioScience* **39**, pp. 24–30.
- Dalsgaard, J., St. John, M., Kattner, G., Müller-Navarra, D. & Hagen, W. (2003). Fatty acid trophic markers in the pelagic marine environment. *Advances in Marine Biology* **46**, 225–340.

- DeAngelis, D., Bartell, S. & Brenkert, A. (1989). Effects of nutrient recycling and food-chain length on resilience. *The American Naturalist* **134**, 778–805.
- Delaigue, O. (2006). *Analyse du régime alimentaire du loup (Canis lupus) et sensibilité des résultats aux biais de détermination*. Master's thesis, Université Claude Bernard – Lyon 1.
- DeNiro, M. & Epstein, S. (1977). Mechanism of carbon isotope fractionation associated with lipid synthesis. *Science* **197**, 261–263.
- 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.
- Doucett, R., Marks, J., Blinn, D., Caron, M. & Hungate, B. (2007). Measuring terrestrial subsidies to aquatic food webs using stable isotopes of hydrogen. *Ecology* **88**, 1587–1592.
- Drouin, J.M. (1984). *La naissance du concept d'écosystème*. Thèse de doctorat de troisième cycle de philosophie, Université de Paris I (Panthéon-Sorbonne).
- Dufour, E. & 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.
- Ehleringer, J., Rundel, P. & Nagy, K. (1986). Stable isotopes in physiological ecology and food web research. *Trends in Ecology and Evolution* **1**, 42–45.
- Elton, C. (1927). *Animal ecology*. Macmillan Co, New York.
- Feld, C., Birk, S., Bradley, D., Hering, D., Kail, J., Marzin, A., Melcher, A., Nemitz, D., Pedersen, M., Pletterbauer, F., Pont, D., Verdonschot, P. & Friberg, N. (2011). From Natural to degraded rivers and back again. a test of restoration ecology theory and practice. *Advances in Ecological Research* **44**, 119–209.
- Finlay, J. (2004). Patterns and controls of lotic algal stable carbon isotope ratios. *Limnology and Oceanography* **49**, 850–861.
- Finlay, J., Doucett, R. & MacNeely, C. (2010). Tracing energy flow in stream food webs using stable isotopes of hydrogen. *Freshwater Biology* **55**, 941–951.
- Finlay, J. & Kendall, C. (2007). Stable isotope tracing of temporal and spatial variability in organic matter sources to freshwater ecosystems. *Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science* (eds. R. Michener & K. Lajtha), pp. 283–333, Blackwell Publishing, Oxford, 2 edn.

- Friberg, N., Bonada, N., Bradley, D., Dunbar, M., Edwards, F., Grey, J., Hayes, R., Hildrew, A., Lamouroux, N., Trimmer, M. & Woodward, G. (2011). Biomonitoring of human impacts in freshwater ecosystems. the good, the bad and the ugly. *Advances in Ecological Research* **44**, 1–68.
- 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.
- Gause, G. (1934). *The struggle for existence*. Williams and Wilkins, Baltimore, Maryland.
- Grey, J. (2001). Ontogeny and dietary specialization in brown trout (*salmo trutta* l.) from loch ness, scotland, examined using stable isotopes of carbon and nitrogen. *Ecology of Freshwater Fish* **10**, 168–176.
- Grey, J., Jones, R. & Sleep, D. (2001). Seasonal changes in the importance of the source of organic matter to the diet of zooplankton in loch Ness, as indicated by stable isotope analysis. *Limnology and Oceanography* **46**, 505–513.
- Hanisch, J., Tonn, W., Paszkowski, C. & Scrimgeour, G. (2010). $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ signatures in muscle and fin tissues : Nonlethal sampling methods for stable isotope analysis of salmonids. *North American Journal of Fisheries Management* **30**, 1–11.
- Hardy, A.C. (1924). The herring in relation to its animate environment. part i. the food and feeding habits of the herring with special reference to the east coast of england. *Fisheries Investigations* **7**, 53.
- Hawkins, B., Field, R., Cornell, H., Currie, D., Guégan, J.F., Kaufman, D., Kerr, J., Mittelbach, G., Oberdorff, T., O'Brien, E., Porter, E. & Turner, J. (2003). Energy, water, and broad-scale geographic patterns of species richness. *Ecology* **84**, 3105–3117.
- Hette-Tronquart, N., Mazeas, L., Reuilly-Manenti, L., Zahm, A. & Belliard, J. (2012a). 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., Dumont, B., Archaimbault, V., Pont, D., Oberdorff, T. & Belliard, J. (2012b). Food chain length and temperature variability : insights from temperate streams p. under submission.
- Hette-Tronquart, N., Tales, E., Oberdorff, T. & Belliard, J. (2012c). Effects of the longitudinal gradient on the size of fish assemblage trophic niche in temperate streams p. in preparation.
- Hicks, B. (1997). Food webs in forest and pasture streams in the waikato region, New zealand : A study based on analyses of stable isotopes of carbon and nitrogen, and fish gut contents. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* **31**, 651–664.

- Hill, W. & Dimick, S. (2002). Effects of riparian leaf dynamics on periphyton photosynthesis and light utilisation efficiency. *Freshwater Biology* **47**, 1245–1256.
- Hladyz, S., Åbjörnsson, K., Chauvet, E., Dobson, M., Eloegi, A., Ferreira, V., Fleituch, T., Gessner, M., Giller, P., Gulis, V., Hutton, S., Lacoursière, J., Lamothe, S., Lecerf, A., Malmqvist, B., McKie, B., Nistorescu, M., Preda, E., Riipinen, M., Rîşnoveanu, G., Schindler, M., Tiegs, S., Vought, L. & Woodward, G. (2011). Stream ecosystem functioning in an agricultural landscape. the importance of terrestrial-aquatic linkages. *Advances in Ecological Research* **44**, 211–276.
- Hladyz, S., Gessner, M., Giller, P., Pozo, J. & Woodward, G. (2009). Resource quality and stoichiometric constraints on stream ecosystem functioning. *Freshwater Biology* **54**, 957–970.
- Hobson, K. (1999). Tracing origins and migration of wildlife using stable isotopes : a review. *Oecologia* **120**, 314–326.
- Hobson, K. & Welch, H. (1992). Determination of trophic relationships within a high arctic marine food web using $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ analysis. *Marine Ecology Progress Series* **84**, 9–18.
- Hoeinghaus, D., Winemiller, K. & Agostinho, A. (2007). Landscape-scale hydrologic characteristics differentiate patterns of carbon flow in large-river food webs. *Ecosystems* **10**, 1019–1033.
- Hoeinghaus, D. & Zeug, S. (2008). Can stable isotope ratios provide for community-wide measures of trophic structure? Comment. *Ecology* **89**, 2353–2357.
- Holt, R. (1993). *Species diversity in ecological communities*, chap. Ecology at the mesoscale : the influence of regional processes on local communities, pp. 77–88. University Chicago Press, Chicago.
- Holt, R. (1996). *Food webs : integration of patterns and dynamics.*, chap. Food webs in space : an island biogeographic perspective., pp. 313–323. Chapman & Hall, New York.
- Holt, R. & Polis, G. (1997). A theoretical framework for intraguild predation. *American Naturalist* **149**, 745–764.
- Hutchinson, G. (1957). Concluding remarks : Cold spring harbour symposium. *Quantitative Biology* **22**, 415–427.
- Hutchinson, G. (1959). Homage to santa rosalia or why are there so many kinds of animals? *The American Naturalist* **93**, 145–159.
- Ibañez, C., Belliard, J., Hughes, R., Irz, P., Kamdem-Toham, A., Lamouroux, N., Tedesco, P. & Oberdorff, T. (2009). Convergence of temperate and tropical stream fish assemblages. *Ecography* **32**, 658–670.

- Ibañez, C., Oberdorff, T., Teugels, G., Mamononekene, V., Lavoué, S., Fermon, Y., Paugy, D. & Toham, A. (2007). Fish assemblages structure and function along environmental gradients in rivers of gabon (africa). *Ecology of Freshwater Fish* **16**, 315–334.
- Jackson, A., Inger, R., Bearhop, S. & Parnell, A. (2009). Erroneous behaviour of mixsir, a recently published bayesian isotope mixing model : A discussion of moore & semmens (2008). *Ecology Letters* **12**, E1–E5.
- 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.
- Jardine, T., Cartwright, D., Dietrich, J. & Cunjak, R. (2005a). Resource use by salmonids in riverine, lacustrine and marine environments : Evidence from stable isotope analysis. *Environmental Biology of Fishes* **73**, 309–319.
- Jardine, T., Gray, M., MacWilliam, S. & Cunjak, R. (2005b). Stable isotope variability in tissues of temperate stream fishes. *Transactions of the American Fisheries Society* **134**, 1103–1110.
- Jardine, T., Hunt, R., Faggotter, S., Valdez, D., Burford, M. & Bunn, S. (2012). Carbon from periphyton supports fish biomass in waterholes of a wet-dry tropical river. *River Research and Applications* .
- Jardine, T., Hunt, R., Pusey, B. & Bunn, S. (2011). A non-lethal sampling method for stable carbon and nitrogen isotope studies of tropical fishes. *Marine and Freshwater Research* **62**, 83–90.
- Jennings, S. (2005). *Aquatic Food Webs : an ecosystem approach*, chap. Size-based analyses of aquatic food webs, pp. 97–108. 8, Oxford University Press, Oxford.
- Jepsen, D. & Winemiller, K. (2002). Structure of tropical river food webs revealed by stable isotope ratios. *Oikos* **96**, 46–55.
- Kelly, B., Dempson, J. & Power, M. (2006). The effects of preservation on fish tissue stable isotope signatures. *Journal of Fish Biology* **69**, 1595–1611.
- Lake, J., McKinney, R., Osterman, F., Pruell, R., Kiddon, J., Ryba, S. & Libby, A. (2001). Stable nitrogen isotopes as indicators of anthropogenic activities in small freshwater systems. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **58**, 870–878.
- Layman, C., Araujo, M., Boucek, R., Hammerschlag-Peyer, C., Harrison, E., Jud, Z., Matich, P., Rosenblatt, A., Vaudo, J., Yeager, L., Post, D. & Bearhop, S. (2011). Applying stable isotopes to examine food-web structure : An overview of analytical tools. *Biological Reviews* .
- Layman, C., Arrington, D., Montaña, C. & Post, D. (2007a). Can stable isotope ratios provide for community-wide measures of trophic structure? *Ecology* **88**, 42–48.

- Layman, C., Quattrochi, J., Peyer, C. & Allgeier, J. (2007b). Niche width collapse in a resilient top predator following ecosystem fragmentation. *Ecology Letters* **10**, 937–944.
- Leberfinger, K., Bohman, I. & Herrmann, J. (2011). The importance of terrestrial resource subsidies for shredders in open-canopy streams revealed by stable isotope analysis. *Freshwater Biology* **56**, 470–480.
- Leclere, J., Belliard, J. & Oberdorff, T. (2012). Young-of-the-year fish assemblages as indicators of anthropogenic disturbances in large tributaries of the seine river basin (france). *Hydrobiologia* **694**, 99–116.
- Lindeman, R. (1942). The trophic-dynamic aspect of ecology. *Ecology* **23**, 399–417.
- Logan, J., Jardine, T., Miller, T., Bunn, S., Cunjak, R. & Lutcavage, M. (2008). Lipid corrections in carbon and nitrogen stable isotope analyses : Comparison of chemical extraction and modelling methods. *Journal of Animal Ecology* **77**, 838–846.
- Lopes, C., Perga, M., Peretti, A., Roger, M., Persat, H. & Babut, M. (2011). Is pCbs concentration variability between and within freshwater fish species explained by their contamination pathways? *Chemosphere* **85**, 502–508.
- MacArthur, R.H. & Pianka, E.R. (1966). On optimal use of a patchy environment. *The American Naturalist* **100**, 603–609.
- MacArthur, R. (1955). Fluctuations of animal populations and a measure of Community stability. *Ecology* **36**, 533–536.
- MacAvoy, S., Macko, S. & Garman, G. (2001). Isotopic turnover in aquatic predators : Quantifying the exploitation of migratory prey. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **58**, 923–932.
- MacConnaughey, T. & McRoy, C. (1979). Food-web structure and the fractionation of Carbon isotopes in the bering sea. *Marine Biology* **53**, 257–262.
- 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.
- MacIntyre, P. & Flecker, A. (2006). Rapid turnover of tissue nitrogen of primary consumers in tropical freshwaters. *Oecologia* **148**, 12–21.
- Maridet, L., Wasson, J., Philippe, M., Amoros, C. & Naiman, R. (1998). Trophic structure of three streams with contrasting riparian vegetation and geomorphology. *Archiv fur Hydrobiologie* **144**, 61–85.
- Marzin, A., Verdonschot, P. & Pont, D. (2012). The relative influence of catchment, riparian corridor, and reach-scale anthropogenic pressures on fish and macroinvertebrate assemblages in french rivers. *Hydrobiologia* .

- Mason, N., Lanoiselée, C., Mouillot, D., Wilson, J. & Argillier, C. (2008). Does niche overlap control relative abundance in french lacustrine fish communities? a new method incorporating functional traits. *Journal of Animal Ecology* **77**, 661–669.
- Matthews, W. (1998). *Patterns in Freshwater Fish Ecology*. Kluwer Academic Publishers, Norwell.
- May, R. (1976). *Theoretical ecology : principles and applications*. Blackwell scientific, Oxford.
- Meziane, T., Lee, S., Mfilinge, P., Shin, P., Lam, M. & Tsuchiya, M. (2007). Inter-specific and geographical variations in the fatty acid composition of mangrove leaves : Implications for using fatty acids as a taxonomic tool and tracers of organic matter. *Marine Biology* **150**, 1103–1113.
- Michener, R. & Lajtha, K. (eds.) (2007). *Stable isotopes in ecology and environmental science*. Blackwell Publishing, Oxford, second edn.
- Moog, D. & Whiting, P. (2002). Climatic and agricultural factors in nutrient exports from two watersheds in ohio. *Journal of Environmental Quality* **31**, 72–83.
- Moore, J. & Semmens, B. (2008). Incorporating uncertainty and prior information into stable isotope mixing models. *Ecology Letters* **11**, 470–480.
- Mouchel, J.M., Billen, G., Maisans, A. & Fresneau-Mitrecey, E. (2007). La qualité des eaux de l'orge vue par seneque. Tech. rep., Piren Seine.
- Mullen, J., Bramblett, R., Guy, C., Zale, A. & Roberts, D. (2011). Determinants of fish assemblage structure in Northwestern great plains streams. *Transactions of the American Fisheries Society* **140**, 271–281.
- Newsome, S., Del Rio, C., Bearhop, S. & Phillips, D. (2007). A niche for isotopic ecology. *Frontiers in Ecology and the Environment* **5**, 429–436.
- Oberdorff, T., Guegan, J. & Hugueny, B. (1995). Global scale patterns of fish species richness in rivers. *Ecography* **18**, 345–352.
- Oberdorff, T., Guilbert, E. & Lucchetta, J.C. (1993). Patterns of fish species richness in the seine river basin, france. *Hydrobiologia* **259**, 157–167.
- Oberdorff, T., Hugueny, B., Compin, A. & Belkessam, D. (1998). Non-interactive fish communities in the coastal streams of North-western france. *Journal of Animal Ecology* **67**, 472–484.
- Oberdorff, T., Pont, D., Hugueny, B. & Porcher, J. (2002). Development and validation of a fish-based index for the assessment of 'river health' in france. *Freshwater Biology* **47**, 1720–1734.

- Oksanen, L., Fretwell, S., Arruda, J. & Niemela, P. (1981). Exploitation ecosystems in gradients of primary productivity. *The American Naturalist* **118**, 240–261.
- Oliveira, A., Soares, M., Martinelli, L. & Moreira, M. (2006). Carbon sources of fish in an amazonian floodplain lake. *Aquatic Sciences* **68**, 229–238.
- Parnell, A., Inger, R., Bearhop, S. & Jackson, A. (2010). Source partitioning using stable isotopes : Coping with too much variation. *Plos One* **5**, e9672.
- Paul, M. & Meyer, J. (2001). Streams in the urban landscape. *Annual Review of Ecology and Systematics* **32**, 333–365.
- Perga, M. & Gerdeaux, D. (2005). 'are fish what they eat' all year round? *Oecologia* **144**, 598–606.
- Persson, L., Diehl, S., Johansson, L., Andersson, G. & Hamrin, S. (1992). Trophic interactions in temperate lake ecosystems : a test of food chain theory. *American Naturalist* **140**, 59–84.
- Peterson, B., Howarth, R. & Garritt, R. (1985). Multiple stable isotopes used to trace the flow of organic matter in estuarine food webs. *Science* **227**, 1361–1363.
- Petts, G. & Calow, P. (eds.) (1996). *River Biota : Diversity and Dynamics*. Blackwell Science, Oxford.
- Phillips, D. (2001). Mixing models in analyses of diet using multiple stable isotopes : A critique. *Oecologia* **127**, 166–170.
- Phillips, D. & Gregg, J. (2003). Source partitioning using stable isotopes : Coping with too many sources. *Oecologia* **136**, 261–269.
- Phillips, D. & Koch, P. (2002). Incorporating concentration dependence in stable isotope mixing models. *Oecologia* **130**, 114–125.
- Phillips, D., Newsome, S. & Gregg, J. (2005). Combining sources in stable isotope mixing models : Alternative methods. *Oecologia* **144**, 520–527.
- Pimm, S. (1982). *Food Webs*. Chapman & Hall, London.
- Pimm, S. & Lawton, J. (1977). Number of trophic levels in ecological communities. *Nature* **268**, 329–331.
- Pinnegar, J. & Polunin, N. (1999). Differential fractionation of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ among fish tissues : Implications for the study of trophic interactions. *Functional Ecology* **13**, 225–231.
- Pitt, K., Connolly, R. & Meziane, T. (2009). Stable isotope and fatty acid tracers in energy and nutrient studies of jellyfish : A review. *Hydrobiologia* **616**, 119–132.

- 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.
- Post, D. (2007). Testing the productive-space hypothesis : Rational and power. *Oecologia* **153**, 973–984.
- Post, D., Doyle, M., Sabo, J. & Finlay, J. (2007a). The problem of boundaries in defining ecosystems : A potential landmine for uniting geomorphology and ecology. *Geomorphology* **89**, 111–126.
- Post, D., Layman, C., Arrington, D., Takimoto, G., Quattrochi, J. & Montaña, C. (2007b). Getting to the fat of the matter : Models, methods and assumptions for dealing with lipids in stable isotope analyses. *Oecologia* **152**, 179–189.
- Post, D., Pace, M. & Hairston, N. (2000). Ecosystem size determines food-chain length in lakes. *Nature* **405**, 1047–1049.
- Post, D. & Takimoto, G. (2007). Proximate structural mechanisms for variation in food-chain length. *Oikos* **116**, 775–782.
- Power, M., Guiguer, K. & Barton, D. (2003). Effects of temperature on isotopic enrichment in daphnia magna : Implications for aquatic food-web studies. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **17**, 1619–1625.
- Power, M. & Dietrich, W. (2002). Food webs in river networks. *Ecological Research* **17**, 451–471.
- Quinn, J., Cooper, A., Davies-Colley, R., Rutherford, J. & Williamson, R. (1997). Land use effects on habitat, water quality, periphyton, and benthic invertebrates in waikato, New zealand, hill-country streams. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* **31**, 579–597.
- Rasmussen, J., Trudeau, V. & Morinville, G. (2009). Estimating the scale of fish feeding movements in rivers using $\delta^{13}\text{C}$ signature gradients. *Journal of Animal Ecology* **78**, 674–685.
- Romanuk, T., Jackson, L., Post, J., McCauley, E. & Martinez, N. (2006). The structure of food webs along river networks. *Ecography* **29**, 3–10.
- Roughgarden, J. (1972). Evolution of Niche width. *The American Naturalist* **106**, 683–718.
- Rounick, J. & Hicks, B. (1985). The stable carbon isotope ratios of fish and their invertebrate prey in four New zealand rivers. *Freshwater Biology* **15**, 207–214.

- Rounick, J., Winterbourn, M. & Lyon, G. (1982). Differential utilization of allochthonous and autochthonous inputs by aquatic invertebrates in some New Zealand streams : a stable carbon isotope study. *Oikos* **39**, 191–198.
- Rubenstein, D. & Hobson, K. (2004). From birds to butterflies : Animal movement patterns and stable isotopes. *Trends in Ecology and Evolution* **19**, 256–263.
- Ruelland, D., Billen, G., Brunstein, D. & Garnier, J. (2007). SeNeque : A multi-scaling GIS interface to the riverstrahler model of the biogeochemical functioning of river systems. *Science of the Total Environment* **375**, 257–273.
- Rybczynski, S., Walters, D., Fritz, K. & Johnson, B. (2008). Comparing trophic position of stream fishes using stable isotope and gut contents analyses. *Ecology of Freshwater Fish* **17**, 199–206.
- Sabo, J., Finlay, J., Kennedy, T. & Post, D. (2010). The role of discharge variation in scaling of drainage area and food chain length in rivers. *Science* pp. 965–967.
- Sabo, J., Finlay, J. & Post, D. (2009). Food chains in freshwaters. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1162**, 187–220.
- Sanderson, B., Tran, C., Coe, H., Pelekis, V., Steel, E. & Reichert, W. (2009). Nonlethal sampling of fish caudal fins yields valuable stable isotope data for threatened and endangered fishes. *Transactions of the American Fisheries Society* **138**, 1166–1177.
- Schmidt, K., Atkinson, A., Stübing, D., MacClelland, J., Montoya, J. & Voss, M. (2003). Trophic relationships among southern ocean copepods and krill : Some uses and limitations of a stable isotope approach. *Limnology and Oceanography* **48**, 277–289.
- Schmidt, S., Olden, J., Solomon, C. & Vander Zanden, M. (2007). Quantitative approaches to the analysis of stable isotope food web data. *Ecology* **88**, 2793–2802.
- Schoener, T. (1989). Food webs from the small to the large. *Ecology* **70**, 1559–1589.
- Schwartz, M., Brigham, C., Hoeksema, J., Lyons, K., Mills, M. & Van Mantgem, P. (2000). Linking biodiversity to ecosystem function : Implications for conservation ecology. *Oecologia* **122**, 297–305.
- Solomon, C., Carpenter, S., Rusak, J. & Vander Zanden, M. (2008). Long-term variation in isotopic baselines and implications for estimating consumer trophic niches. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **65**, 2191–2200.
- Steinmetz, J., Kohler, S.L. & Soluk, D.A. (2003). Birds are overlooked top predators in aquatic food webs. *Ecology* **84**, 1324–1328.
- Sterner, R., Bajpai, A. & Adams, T. (1997). The enigma of food chain length : Absence of theoretical evidence for dynamic constraints. *Ecology* **78**, 2258–2262.

- Sweeney, B. (1999). Effects of streamside vegetation on macroinvertebrate communities of white Clay Creek in eastern North America. *NCASI Technical Bulletin* **2**, 524.
- Sweeney, B. & Czapka, S. (2004). Riparian forest restoration : Why each site needs an ecological prescription. *Forest Ecology and Management* **192**, 361–373.
- Sweeting, C., Barry, J., Barnes, C., Polunin, N. & Jennings, S. (2007a). Effects of body size and environment on diet-tissue $\delta^{15}\text{N}$ fractionation in fishes. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **340**, 1–10.
- Sweeting, C., Barry, J., Polunin, N. & Jennings, S. (2007b). Effects of body size and environment on diet-tissue $\delta^{13}\text{C}$ fractionation in fishes. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **352**, 165–176.
- Sweeting, C., Polunin, N. & Jennings, S. (2006). Effects of chemical lipid extraction and arithmetic lipid correction on stable isotope ratios of fish tissues. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **20**, 595–601.
- Takimoto, G. & Post, D. (2012). Environmental determinants of food-chain length : a meta-analysis. *Ecological Research* pp. 1–7.
- Takimoto, G., Post, D., Spiller, D. & Holt, R. (2012). Effects of productivity, disturbance, and ecosystem size on food-chain length : Insights from a metacommunity model of intraguild predation. *Ecological Research* **27**, 481–493.
- Takimoto, G., Spiller, D. & Post, D. (2008). Ecosystem size, but not disturbance, determines food-chain length on islands of the Bahamas. *Ecology* **89**, 3001–3007.
- Tales, E., Belliard, J., Epissard, J., Gorges, G., C., L.P. & Zahm, A. (2007). Connaissance des peuplements de poissons dans les petits bassins versants. *Piren-Seine* p. 15.
- Thompson, R., Dunne, J. & Woodward, G. (2012). Freshwater food webs : towards a more fundamental understanding of biodiversity and community dynamics. *Freshwater Biology* pp. no–no.
- Thorp, J. & DeLong, M. (1994). The riverine productivity model : An heuristic view of carbon sources and organic processing in large river ecosystems. *Oikos* **70**, 305–308.
- Townsend, C. & Hildrew, A. (1994). Species traits in relation to a habitat templet for river systems. *Freshwater Biology* **31**, 265–275.
- Townsend, C., Thompson, R., MacIntosh, A., Kilroy, C., Edwards, E. & Scarsbrook, M. (1998). Disturbance, resource supply, and food-web architecture in streams. *Ecology Letters* **1**, 200–209.
- Trueman, C., MacGill, R. & Guyard, P. (2005). The effect of growth rate on tissue-diet isotopic spacing in rapidly growing animals. an experimental study with Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **19**, 3239–3247.

- Vander Zanden, M., Cabana, G. & Rasmussen, J. (1997). Comparing trophic position of freshwater fish calculated using stable nitrogen isotope ratios ($\delta^{15}\text{N}$) and literature dietary data. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **54**, 1142–1158.
- Vander Zanden, M. & Fetzer, W. (2007). Global patterns of aquatic food chain length. *Oikos* **116**, 1378–1388.
- 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.
- Vander Zanden, M. & Rasmussen, J. (2001). Variation in $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ trophic fractionation : Implications for aquatic food web studies. *Limnology and Oceanography* **46**, 2061–2066.
- Vanderklift, M. & Ponsard, S. (2003). Sources of variation in consumer-diet $\delta^{15}\text{N}$ enrichment : A meta-analysis. *Oecologia* **136**, 169–182.
- 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.
- Walters, A. & Post, D. (2008). An experimental disturbance alters fish size structure but not food chain length in streams. *Ecology* **89**, 3261–3267.
- Walther, G. (2010). Community and ecosystem responses to recent climate change. *Philosophical Transactions of the Royal Society B : Biological Sciences* **365**, 2019–2024.
- Watson, A. & Barmuta, L. (2011). Feeding-preference trials confirm unexpected stable isotope analysis results : Freshwater macroinvertebrates do consume macrophytes. *Marine and Freshwater Research* **62**, 1248–1257.
- Werner, R. & Brand, W. (2001). Referencing strategies and techniques in stable isotope ratio analysis. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **15**, 501–519.
- Winemiller, K., Hoetinghaus, D., Pease, A., Esselman, P., Honeycutt, R., Gbanaador, D., Carrera, E. & Payne, J. (2011). Stable isotope analysis reveals food web structure and watershed impacts along the fluvial gradient of a mesoamerican coastal river. *River Research and Applications* **27**, 791–803.
- Woodland, R., Rodríguez, M., Magnan, P., Glémet, H. & Cabana, G. (2012). Incorporating temporally dynamic baselines in isotopic mixing models. *Ecology* **93**, 131–144.
- Woodward, G. (2009). Biodiversity, ecosystem functioning and food webs in fresh waters : Assembling the jigsaw puzzle. *Freshwater Biology* **54**, 2171–2187.
- Woodward, G., Benstead, J., Beveridge, O., Blanchard, J., Brey, T., Brown, L., Cross, W., Friberg, N., Ings, T., Jacob, U., Jennings, S., Ledger, M., Milner, A., Montoya, J., O’Gorman, E., Olesen, J., Petchey, O., Pichler, D., Reuman, D., Thompson, M., Van Veen, F. & Yvon-Durocher, G. (2010a). Ecological Networks in a Changing Climate. *Advances in Ecological Research* **42**, 71–138.

- Woodward, G., Dybkjaer, J., Ólafsson, J., Gíslason, G., Hannesdóttir, E. & Friberg, N. (2010b). Sentinel systems on the razor's edge : Effects of warming on arctic geothermal stream ecosystems. *Global Change Biology* **16**, 1979–1991.
- Woodward, G., Ebenman, B., Emmerson, M., Montoya, J., Olesen, J., Valido, A. & Warren, P. (2005a). Body size in ecological networks. *Trends in Ecology and Evolution* **20**, 402–409.
- Woodward, G. & Hildrew, A. (2002). Food web structure in riverine landscapes. *Freshwater Biology* **47**, 777–798.
- Woodward, G., Perkins, D. & Brown, L. (2010c). Climate change and freshwater ecosystems : Impacts across multiple levels of organization. *Philosophical Transactions of the Royal Society B : Biological Sciences* **365**, 2093–2106.
- Woodward, G., Speirs, D. & Hildrew, A. (2005b). Quantification and resolution of a Complex, size-structured food web. *Advances in Ecological Research* **36**, 85–135.
- Woodward, G., Thompson, R., Townsend, C. & Hildrew, A. (2005c). Pattern and process in food webs : evidence from running waters. *Aquatic food webs : an ecosystem approach* (eds. A. Belgrano, U. Scharler, J. Dunne & R. Ulanowicz), chap. 5, pp. 51–66, Oxford University Press, New York.
- Wootton, J., Parker, M. & Power, M. (1996). Effects of disturbance on river food webs. *Science* **273**, 1558–1561.
- Yodzis, P. (1984). Energy flow and the vertical structure of real ecosystems. *Oecologia* **65**, 86–88.
- Zeug, S. & Winemiller, K. (2008). Evidence supporting the importance of terrestrial carbon in a large-river food web. *Ecology* **89**, 1733–1743.

Annexes

Annexe A

Article 1 : Fish fins as non-lethal surrogates for muscle tissues in freshwater food web studies using stable isotopes

Article publié le 30 juillet 2012 dans la revue
Rapid Communications in Mass Spectrometry

Annexe B

Article 2 : Effects of the longitudinal gradient on the size of fish assemblage trophic niche in temperate streams

Article soumis le 1 octobre 2012 à la revue
Oikos

Effects of the longitudinal gradient on the size of fish assemblage trophic niche in temperate streams

Journal:	<i>Oikos</i>
Manuscript ID:	OIK-00287
Wiley - Manuscript type:	Research
Date Submitted by the Author:	01-Oct-2012
Complete List of Authors:	Hette-Tronquart, Nicolas; Irstea, UR HBAN Tales, Evelyne; Irstea, UR Hban Oberdorff, Thierry; IRD, Belliard, Jérôme; Irstea, UR Hban
Keywords:	food web, stable isotopes, upstream-downstream gradient
Abstract:	Streams are known to change along the upstream-downstream gradient (UDG). Here, we focus on the poorly documented influence of the UDG on stream food webs. Using a community-wide approach, based on the area of the isotopic trophic niche (AITN) occupied by fish assemblages at 12 sites, we carry out a path analysis to quantify which of the following patterns is predominant: 1- a direct effect of the gradient; 2-an indirect effect through fish assemblage species richness; 3- an indirect effect through fish assemblage biomass; 4- an indirect effect through assemblage species richness by means of assemblage biomass. In addition, three species-based metrics (mean area of, mean distance between, and mean percent overlap of the isotopic trophic niches occupied by each species within a site) are estimated to clarify whether variations in the assemblage-wide AITN are due to differences in intra- or inter-specific trophic diversity. We find that total (direct and indirect) effect of the UDG increases significantly the AITN. Path analysis reveals that the direct UDG effect is significant and positive, while the indirect effect through assemblage species richness is significant but negative. The direct effect is related to ecosystem size, while the indirect effect can be attributed to resource availability. The species-based approach indicates that species spacing in the assemblage is responsible for the observed variations in the AITN. According to these results, the UDG alters stream food webs. Consequently, future studies on stream food webs should take gradient effects into account, or at least, should be done at a similar position along the gradient. Otherwise, the UDG will confound the influence of other environmental factors.

SCHOLARONE™
Manuscripts

For Review Only

Nicolas Hette Tronquart^{*a}, Evelyne Tales^a, Thierry Oberdorff^b and Jérôme Belliard^a.

Effects of the longitudinal gradient on the size of fish assemblage trophic niche in temperate streams

^a Irstea, UR HBAN, 1 rue Pierre-Gilles de Gennes, CS 10030, F-92761 Antony, France

^b UMR CNRS 7208-IRD 207-MNHN-UPMC "Biologie des Organismes et Ecosystemes Aquatiques", DMPA, Museum National d'Histoire Naturelle, 43 rue Cuvier 75005 Paris, France

* Correspondence to: Nicolas Hette Tronquart, E-mail: nicolas.hette@edu.mnhn.fr, Phone: +33 (0)1 40 96 61 21, Fax: +33 (0)1 40 96 61 99

Abstract:

Streams are known to change along the upstream-downstream gradient (UDG). Here, we focus on the poorly documented influence of the UDG on stream food webs. Using a community-wide approach, based on the area of the isotopic trophic niche (AITN) occupied by fish assemblages at 12 sites, we carry out a path analysis to quantify which of the following patterns is predominant: 1- a direct effect of the gradient; 2-an indirect effect through fish assemblage species richness; 3- an indirect effect through fish assemblage biomass; 4- an indirect effect through assemblage species richness by means of assemblage biomass. In addition, three species-based metrics (mean area of, mean distance between, and mean percent overlap of the isotopic trophic niches occupied by each species within a site) are estimated to clarify whether variations in the assemblage-wide AITN are due to differences in intra- or inter-specific trophic diversity. We find that total (direct and indirect) effect of the UDG increases significantly the AITN. Path analysis reveals that the direct UDG effect is significant and positive, while the indirect effect through assemblage species richness is significant but negative. The direct effect is related to ecosystem size, while the indirect effect can be attributed to resource availability. The species-based approach indicates that species spacing in the assemblage is responsible for the observed variations in the AITN. According to these results, the UDG alters stream food webs. Consequently, future studies on stream food webs should take gradient effects into account, or at least, should be done at a similar position along the gradient. Otherwise, the UDG will confound the influence of other environmental factors.

Introduction:

Streams flow in one direction, by gravity, from source to sea. This unidirectional flow leads to progressive changes in water volume, flow velocity and sediment size, which influences channel width, depth and slope (Petts and Calow 1996). In turn, this upstream-downstream gradient in physical conditions (UDG) creates strong constraints on freshwater biological communities linked to physical and chemical conditions (e.g. current velocity, temperature, dissolved oxygen), sources of organic matter (e.g. the river continuum concept: Vannote et al. 1980), habitat spatial and temporal heterogeneities (e.g. the river habitat template: Townsend and Hildrew 1994) or habitat volume (MacGarvey and Hughes 2008). Headwater streams generally display high hydrologic variability, low habitat volume and/or heterogeneity and are strongly influenced by riparian vegetation (Power and Dietrich 2002). The abundant canopy cover limits autochthonous primary production by shading and introduces substantial allochthonous material into the stream. As streams become larger along the UDG, the degree of habitat heterogeneity increases, the degree of shading decreases, and consequently, the proportion of resources originating from aquatic primary production increases. In response to these functional shifts, the richness and functional traits of aquatic communities vary from upstream to downstream (Vannote et al. 1980, Matthews 1998). It is indeed assumed that the macroinvertebrate community is initially dominated by shredders in headwater streams. Moving downstream, collectors become more abundant and co-dominate with shredders. Grazers-scrappers dominate the middle part of the reach and are progressively replaced downstream by filter-feeders. Concerning fish, Oberdorff et al. (1993) (for temperate streams) and Ibañez et al. (2007) (for tropical streams) indicate that species richness increases and fish assemblage changes from invertivorous to

omnivorous and piscivorous guilds from upstream to downstream. Given these modifications of biological communities, stream food webs should change along the UDG. The alteration of stream food webs should be all the more substantial that stream food webs are also influenced by habitat heterogeneity (Thompson and Townsend 2005, MacHugh et al. 2010) or environmental stability (MacHugh et al. 2010), both of which known to increase along the UDG (Post and Takimoto 2007, Sabo et al. 2010). However, very few studies have dealt with the influence of the UDG on stream food webs (Power and Dietrich 2002), and its effect remains poorly documented (but see Winemiller et al. 2011). Notably, no study has focused on the interactions between the effects of the UDG and species richness on stream food webs. This is quite a lack because species richness of fish assemblage for example, is known to increase worldwide along the UDG (Ibañez et al. 2009) and is often used to explain stream food web variations (Post and Takimoto 2007).

In this study, we examine the effects of the UDG on one of the six community-wide metrics developed by Layman et al. (2007): the area of the isotopic trophic niche (AITN) occupied by an assemblage of species. The AITN is related to the area of the trophic niche occupied by the assemblage, and gives an integrative measure of exploited resource diversity and trophic level richness. We consider both direct effect of the UDG, and potentially indirect effect through species richness. Given that biomass is considered to be positively linked to species richness (Schwartz et al. 2000, Cardinale et al. 2006), we also study the effect of biomass. We focus on fish assemblages, because fish are known to display a wide range of feeding behaviour, potentially covering a wide range of trophic levels (from herbivorous and/or detritivorous to piscivorous species) and relying on a wide range of basal resources

(from autochthonous to terrestrial organic matter) (Matthews 1998, Jepsen and Winemiller 2002, Oberdorff et al. 2002). As such, fish assemblages constitute a substantial part of stream food webs and can be used for testing our hypotheses. Using a path analysis, we determine which of the following relationships is predominant: (1) a direct effect of the UDG on the AITN; (2) an indirect effect of the UDG on the AITN through fish assemblage species richness; (3) an indirect effect of the UDG on the AITN through fish assemblage biomass; and (4) an indirect effect of the UDG on the AITN through both fish assemblage species richness and biomass. We put our results in perspective of general food web theory, discussing the effects of the UDG in light of the three main hypotheses currently proposed to explain food web variations within ecosystems (i.e. “resource availability”, “ecosystem stability” and “ecosystem size” hypotheses, Sabo et al. 2009).

Material and Methods

Study Sites

We studied twelve sites located in different tributaries of the Orge River (catchment area: 937 km²), affluent tributary of the Seine River (France, Fig. 1). Within this small catchment, climatic conditions and geology are homogeneous. Sites were chosen to reflect the upstream-downstream gradient. Upstream catchment areas of the sites ranged from 4 to 226 km² (Fig. 1 and Table 1). Site position along the gradient was quantified using a multivariate combination of four synthetic variables: catchment area upstream of the site (km²), distance from the source (km), and two geomorphological variables (mean stream width (m) and mean water depth (m)). Catchment area and distance from the source were calculated using data from the Regional Geographic Information System (RGIS) of the "Institut d'Aménagement et d'Urbanisme d'Île-de-France". Stream width was measured at five transects along each sampled site reach. Water depth was measured at ten transects (five observations per transect). Stream width and water depth measurements were averaged to obtain one value for each site. Data for catchment area and stream width were log-transformed for normality. Finally, a multivariate index was generated using the first axis of a principal component analysis performed on the four variables; hereafter, we refer to this synthetic variable as the upstream-downstream gradient (UDG).

Sampling

The size of each sampling site varied with stream width (site length was 10 to 20 times the stream width). Site position on tributaries was chosen to be representative of stream habitats and generally included at least one pool-riffle complex. Fish were

sampled during July and August 2009 by conducting a single-pass electrofishing at each site. Fish assemblage species richness was defined as the total number of species sampled by electrofishing. All fish species were collected for stable isotope analyses (SIA), except those species represented by a low number of small-sized juveniles. For one site, recently stocked, brown trout individuals were discarded from SIA. For each site, the number of fish species retained for SIA was closely related to fish assemblage species richness ($\rho = 0.80$, Spearman's correlation). Each individual's total length was measured before SIA sampling, or before releasing the fish into the stream. After collection, samples were transported on ice to the laboratory, where they were rinsed the same day with distilled water and kept frozen for later handling. Using specific weight-length relationships (Table 2), we estimated the fish biomass of each species from each site.

Stable Isotope Analysis

We analysed carbon and nitrogen stable isotope ratios for 465 samples (see Table 2) with a Thermo Electron FlashEA 1112 Series elemental analyser (single reactor setup) coupled with a Thermo Scientific DeltaV Plus Isotope Ratio Mass Spectrometer (EA-IRMS) (Thermo Scientific, Bremen, Germany). Each sample underwent the same preparation prior to analysis. After being freeze-dried, samples were ground to powder and weighed precisely ($\pm 10 \mu\text{g}$) in tin capsules. We performed SIA on fin clips whenever possible to avoid killing individuals (Hette-Tronquart et al. 2012). However, two species were too small to obtain enough fin tissue for analysis (i.e. *Gasterosteus aculeatus* and *Pungitius pungitus*). In this case, individuals were euthanized and analyses were carried out using the whole fish (after removing head and viscera) so that a sample consisted mainly of muscle, fin, and

bone tissues. Altogether, isotope analyses were done on twelve fish species (Table 2).

Samples were analysed in consecutive sequences (96 samples per sequence), beginning with 3 empty tin capsules for blank correction. Three international reference materials (IAEA CH-7, N1 and N2, International Atomic Energy Agency, Vienna, Austria) were analysed at the beginning and at the end of the sequence for linear normalisation. One internal reference (muscle from *Squalius cephalus*) was analysed every six samples in order to compensate for possible machine drift and as a quality control measure. Linearity correction was carried out to account for differences in peak amplitudes between sample and reference gases (CO₂ or N₂). Resulting isotope ratios R (i.e. ¹³C/¹²C and ¹⁵N/¹⁴N) were expressed in conventional delta notation (δ), relative to the international standards, Pee Dee Belemnite limestone (V-PDB R = 11180.2 ± 2.8 × 10⁻⁶, Werner and Brand 2001), and atmospheric air (R = 3678 ± 1.5 × 10⁻⁶, Werner and Brand 2001). Assessed with the standard deviation of our internal reference (*S. cephalus*. muscle), the analytical precision associated with our δ¹³C and δ¹⁵N sample runs over the whole SIA period (from May 2010 to November 2011) was estimated at 0.15 and 0.21 ‰, respectively. Lipid correction was carried out for all samples for which the C:N ratio was greater than 3.5, following recommendations, and using the equation for aquatic animals proposed in Post et al. (2007). All isotope ratios obtained from fin clip analysis were corrected using the general models developed in Hette-Tronquart et al. (2012) to account for isotope signal differences between fin and muscle tissues.

Assemblages variation along the UDG

First, we examined the relationships between the UDG, fish assemblage species

richness and fish assemblage biomass by performing linear and quadratic regressions. To analyse the effect of fish assemblage species richness, we investigated the percentages of the different trophic guilds along the UDG (see Table 2 for trophic guild classification of the fish species). Percentages of the trophic guild were calculated at each site, as the ratio between guild biomass and total biomass.

Assemblage-wide approach to the food webs

To test our hypothesis, we use the area of the isotopic trophic niche (AITN) occupied by the fish assemblage. The AITN is given by the convex hull area encompassed by all fish individuals in $\delta^{13}\text{C} - \delta^{15}\text{N}$ biplot space. From the six community-wide metrics developed by Layman et al. (2007), the AITN (initially named Total Area – TA – in the publication by Layman et al. 2007) is a metric representing a measure of the total amount of niche space occupied, and thus a proxy for the total extent of trophic diversity within a food web. The AITN integrates both the isotopic variation in $\delta^{13}\text{C}$, representing basal resource diversity, and in $\delta^{15}\text{N}$, representing the trophic level diversity. The AITN is a metric strongly influenced by the number of individuals included in the calculation and Layman et al. (2007) emphasize that "between- and among-system comparisons using community-wide metrics will be most meaningful when food webs are defined in the same fashion". In our case, the three most upstream sites had only one or two species, preventing us from calculating an AITN from the species' mean isotopic values. Consequently, we chose to calculate the AITN from the isotopic signals of ten individuals at each site, to account for biases arising from different number of individuals within sites. At one site, only six individuals were analyzed, so that we calculated the AITN directly, using this reduced

number of individuals. For all other sites we selected ten individuals for the calculation of the AITN. In a first step, we randomly chose one individual per species collected at each site. In a second step, we randomly selected additional individuals from the remaining site sample to obtain ten individuals. In a third step, we calculated the area of the isotopic trophic niche occupied by the ten selected individuals. We repeated these three steps 1000 times and obtained the AITN values by calculating the median of the 1000 calculated areas. Using the AITN values, we tested for a potential relationship with the UDG and we conducted a path analysis to quantify the relationships between the UDG, fish assemblage species richness, fish assemblage biomass, and the AITN.

Species-based approach to the food webs

To clarify the relationship between the assemblage-wide AITN and the UDG, we considered species-based metrics. Two mechanisms can explain an increase in the assemblage-wide AITN (Bearhop et al. 2004): first, the assemblage is composed of generalist species all taking a wider range of food types, expanding their own AITN, which increases the assemblage-wide AITN; second, each species are specialising on a different but narrow range of food types, extending the distances between the different species' niches, which causes an enlargement of the assemblage-wide AITN (Fig. 2). To test which of the two mechanisms best explained the variation in the assemblage-wide AITN, we calculated different species-based metrics for each species at each sites, for which we had more than five individuals. One site, where fewer than five individuals per species were available, was discarded from the species-based approach. For each of the eleven remaining sites, we first randomly selected five individuals for each species. In a second step, we calculated the

different AITNs occupied by the five individuals of each species. In a third step, we calculated the mean $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values for all five individuals and deduced the minimal Euclidean distance between one species and the other species at the site in the $\delta^{13}\text{C} - \delta^{15}\text{N}$ biplot space. In a last step, we evaluated the niche overlap of one species with the niches of the other species at the site, using the ratio of the area of the species' niche occupied by the other species, divided by the area of the species' niche (Fig. 3). We repeated these steps 1000 times and took the median of the resulting distributions. Last, we aggregated the obtained values by site, averaging the medians of the different site species and obtained three species-based metrics for each of the eleven remaining sites. AITN_{spe} is the mean AITN occupied by each species, D is the mean Euclidean distance between the trophic niche of one species and the niches of the other species, and AITN_{ove} is the mean overlap of the trophic niche of one species with the trophic niches of the other species. Examining the evolution of these three species-based metrics along the UDG or as a function of fish assemblage species richness, we tried to clarify the mechanisms responsible for the assemblage-wide AITN variations.

Results

Assemblages variation along the UDG

Contrary to fish assemblage biomass (p -value = 0.490), fish assemblage species richness was strongly correlated to the UDG (linear model, p -value < 0.001, R^2 = 0.70). Assemblage biomass was not linked to species richness (p -value = 0.652). The proportion of invertivorous species was negatively correlated with the proportion of omnivorous species (ρ = -1, Spearman's correlation) and decreased along the UDG (Fig. 4, p -value = 0.002, R^2 = 0.64).

Assemblage-wide approach to food webs

The total (direct and indirect) effect of the UDG on the assemblage-wide AITN was significant and positively linear (Fig. 5).

Path coefficients for the effects of the UDG on fish assemblage species richness and on the AITN were both significant and positive (p -values < 0.001). Path coefficient for the effect of fish assemblage species richness on the AITN was also significant but negative (p -value < 0.001). Path coefficients for the relationships including biomass were not significant (Fig. 6).

A multiple regression model, including the effects of the UDG and fish assemblage species richness on the AITN, explained 88 % of AITN variations (p -value < 0.001), with a positive effect of the UDG and a negative effect of fish assemblage species richness (partial p -values < 0.001).

Species-based approach to the food webs

No significant relationship was found between the $AITN_{spe}$ and the UDG, fish assemblage species richness or biomass (p -value > 0.7). On the other hand, we

found a significant multi-linear model explaining 74% of D variations (p -value = 0.004, $R^2 = 0.74$), by combining the UDG and fish assemblage species richness. The gradient effect is positive (partial p -value = 0.003), whereas the species richness effect is negative (partial p -value = 0.044). We also found a positive significant effect of assemblage species richness on the $AITN_{ove}$ (Fig. 7).

For Review Only

Discussion

Assemblages variation along the UDG

Due to the addition of omnivorous and, to a lesser extent, piscivorous species, in lower stream reaches, fish assemblage species richness increases along the UDG, in accordance with previous patterns observed for both temperate (Oberdorff et al. 1993) and tropical (Ibañez et al. 2007, Winemiller et al. 2011) streams.

Unexpectedly, no significant relationship was found between the UDG and fish assemblage biomass. Indeed, we expected fish assemblage biomass to increase along the UDG, together with fish assemblage species richness (Cardinale et al. 2006). The absence of a relationship between fish assemblage species richness and biomass suggests a "partial saturation" of the fish assemblages in the studied sites (but see Oberdorff et al. 1998). Carey and Wahl (2011) reported that productivity (measured as biomass) could become saturated even at low levels of species richness. In our case, we suppose that the fish assemblage species richness increases faster than the amount of available energy. Consequently, the arrival of a new species occurs at the expense of the other species, so that there is no increase of the fish assemblage biomass (Oberdorff et al. 1998).

Assemblage-wide approach to the food webs

The assemblage-wide AITN was significantly related to the UDG, confirming the key role of the gradient in ecosystem functioning (Winemiller et al. 2011, Chang et al. 2012). According to the results of the path analysis, only two of the four proposed pathways are significant: the UDG influences the AITN with a direct positive effect, and an indirect negative effect through fish assemblage species richness. The direct effect predominates, so that the total effect is positive. Currently three main

hypotheses are proposed to explain food web variations within ecosystems: the "resource availability", the "ecosystem stability" and the "ecosystem size" hypotheses (Sabo et al. 2009). Within this conceptual framework, the direct and indirect effects of the UDG are related to different hypotheses.

The direct pathway occurs with constant fish assemblage species richness and biomass. As a result, the "resource availability" hypothesis does not explain the observed AITN variations, because a greater amount of available resources would have led to greater fish assemblage species richness and/or biomass. On the other hand, the "ecosystem stability" hypothesis can explain an increase in the AITN. When streams become more stable along the longitudinal gradient (e.g. Sabo et al. 2010), fish undergo less perturbation stress, and their energy requirements decrease. Consequently, fish omnivory decreases, and the trophic complexity of the fish assemblage increases, leading to a larger AITN. The "ecosystem size" hypothesis can also explain the observed variations in the AITN. Downstream reaches are known to display higher habitat heterogeneity (Ibañez et al. 2009), offering higher resource diversity. The fish assemblage could exploit these resources, ultimately increasing the AITN.

The indirect negative effect on the AITN through fish assemblage richness is more unexpected. The principle of functional redundancy (Schwartz et al. 2000, Carey and Wahl 2011) that explains how a limited number of species can have high functional diversity and make the arrival of most other species functionally redundant, can admittedly apply for trophic relationships. Here, the increase in fish assemblage species richness is mainly due to the arrival of omnivorous species. However, it cannot explain a decrease in trophic diversity. As a result, fish assemblage species

richness alone cannot be responsible for the observed negative effect which leads us to examine the reasons why fish assemblage species richness increases.

According to Barbour and Brown (1974) and Hoeinghaus et al. (2007), increase in species richness is usually due to habitat size and heterogeneity and/or resource availability. Habitat size is irrelevant in our case, as the effect of fish assemblage species richness occurs at constant position in the UDG resulting in constant habitat size. Higher habitat heterogeneity may explain higher fish assemblage species richness, but should also result in higher resource diversity, ultimately increasing the AITN. Consequently habitat cannot explain the negative effect of fish assemblage species richness on the AITN. On the other hand, higher amount of resources could explain the increase of fish assemblage species richness. In this case, following the conceptual framework of Matthews (1998), two different patterns of resource availability may explain a reduction of the AITN, while fish assemblage species richness increases (Fig. 8). First, resources can increase and become superabundant (B situation, Fig. 8). According to this pattern, fish assemblage species richness can increase without competition, and at the extreme, all species can use the same limited number of resources (the optimal foraging theory MacArthur and Pianka 1966) states that species did not waste time and energy searching for specialised food if a resource is superabundant). When feeding on the same limited number of abundant resources occurs, the AITN occupied by the fish assemblage is reduced. However, the partial energetic saturation of our sites, leads to a rejection of this superabundant resources hypothesis. The other pattern (A situation, Fig. 8) takes place when resources are scarce, forcing all species to feed on similar resources. This pattern can occur when species richness increases more rapidly than available resources. In this case, an increase in fish assemblage species

richness leads to a limitation in resource availability which may lead to a reduction of the AITN.

From the three main hypotheses commonly proposed to explain food web variations, the "resource availability" hypothesis together with fish assemblage species richness could explain the indirect effect of the UDG on the AITN, while the "ecosystem stability" or "ecosystem size" hypotheses could explain the direct influence of the UDG.

Species-based approach to the food webs

The species-based approach suggests that the AITN occupied by each species remains notably constant along the UDG or with fish assemblage species richness and cannot consequently explain the variations of the assemblage-wide AITN. On the contrary, the mean distance between the specific niches seems to increase along the UDG and decrease with fish assemblage species richness. Therefore, trophic niche overlap increases with fish assemblage species richness. These results reveal that the species response to the gradient and to fish assemblage species richness, consists of a modification of their position in the trophic space, resulting in more or less overlap of their respective niche (mechanism B of the Fig. 3). On the other hand, the species do not change the trophic diversity of their prey, maintaining their trophic niche area (the mechanism A does not apply, Fig. 3). In the $\delta^{13}\text{C} - \delta^{15}\text{N}$ biplot, the spacing between individuals of the same species remains similar along the UDG (no change of AITN_{spe}), while the species packing in the trophic space changes and explains the variations of the assemblage-wide AITN. This is in accordance with the "ecosystem size" hypothesis proposed to explain the direct effect of the UDG, or with the "resource availability" hypothesis advanced for the indirect effect of the UDG.

However, this stands in contradiction to the "ecosystem stability" hypothesis, which was also proposed to explain the direct effect of the UDG, and posits that individuals would be more or less affected by stress. Consequently, individuals would modify their trophic position, changing $AITN_{spe}$. As a result, we suppose that the direct effect of the UDG is first due to the "ecosystem size" hypothesis.

Conclusion

In addition to recent studies that explored the impact of the upstream-downstream gradient on the sources of organic matter in a subtropical river (Chang et al. 2012) or on food web structure in a Mesoamerican river (Winemiller et al. 2011), we focused here on a temperate river system and, for the first time, examined the effect of the upstream-downstream gradient on the isotopic trophic niche area of fish assemblages. The AITN is an integrative metric, taking into account both the basal resource diversity and the trophic level richness of the food web. However, this metric displays some limitations (Hoeinghaus and Zeug 2008); particularly, the inter-site isotopic variations of the food web basal resources are not taken into account in the calculation. Here, we have taken advantage of the relatively small size of the River Orge catchment area, to control for isotope baseline variation and we assume that isotopic variations in basal resources remain negligible. On the other hand, the relatively small size of the catchment lets us consider a relatively restricted upstream-downstream gradient, preventing us from observing a significant presence of the piscivorous species at the most downstream sites. Including more downstream sites in our gradient may have revealed a positive effect of fish assemblage species richness by including piscivorous top-predators. However, even if we restricted the ecosystem to fish assemblages and used a relatively restricted gradient, our results

demonstrate that the upstream-downstream gradient greatly influences food web functioning. Consequently, the study of the upstream-downstream gradient should be a prerequisite for all studies dealing with stream food webs. Future works should, at least, insure before making comparisons that the different sites are situated in a constrained part of the gradient. Otherwise, the longitudinal gradient effects on food webs are likely to confound the influence of other environmental factors. Our study also reveals that species richness could also play a key role in food web functioning, showing that an increase in fish species richness does not necessarily increase the size of the trophic niche occupied by the fish.

Acknowledgement

Grateful acknowledgment is expressed to HEF team (part of Hydrosystems and Bioprocesses Research Unit at Irstea Antony) for assistance in the field and sample preparation. We thank Adrien Rey and the regional natural park "Parc Naturel Régional de la haute vallée de Chevreuse" for advice and participation in field work. Olivier Delaigue gave helpful recommendations for statistical analysis. Michel Hénin, head of the RGIS department at the "Institut d'Aménagement et d'Urbanisme d'Île-de-France" kindly provided us with the land cover data. We thank Deborah Slawson for copyediting the initial manuscript. This work was partly funded by the Interdisciplinary Research Program about the Seine River environment PIREN-Seine.

References

- Barbour, C. D. and Brown, J. H. 1974. Fish Species Diversity in Lakes. – *Am. Nat.* 108: 473-489.
- Bearhop, S. et al. 2004. Determining trophic niche width: A novel approach using stable isotope analysis. – *J. Anim. Ecol.* 73: 1007-1012.
- Cardinale, B. et al. 2006. Effects of biodiversity on the functioning of trophic groups and ecosystems. – *Nature* 443: 989-992.
- Carey, M. and Wahl, D. 2011. Determining the mechanism by which fish diversity influences production. – *Oecologia* 167: 189-198.
- Chang, H.-Y. et al. 2012. Longitudinal variation in food sources and their use by aquatic fauna along a subtropical river in Taiwan. – *Freshwater Biol.*
- Froese, R. and Pauly, D. 2012. FishBase. - www.fishbase.org
- Hette-Tronquart, N. et al. 2012. Fish fins as non-lethal surrogates for muscle tissues in freshwater food web studies using stable isotopes. – *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 26: 1603-1608.
- Hoeinghaus, D. and Zeug, S. 2008. Can stable isotope ratios provide for community-wide measures of trophic structure? Comment. – *Ecology* 89: 2353-2357.
- Hoeinghaus, D. et al. 2007. Landscape-scale hydrologic characteristics differentiate patterns of carbon flow in large-river food webs. – *Ecosystems* 10: 1019-1033.
- Ibañez, C. et al. 2007. Fish assemblages structure and function along environmental gradients in rivers of Gabon (Africa). – *Ecology of Freshwater Fish* 16: 315-334.
- Ibañez, C. et al. 2009. Convergence of temperate and tropical stream fish assemblages. – *Ecography* 32: 658-670.

- Jepsen, D. and Winemiller, K. 2002. Structure of tropical river food webs revealed by stable isotope ratios. – *Oikos* 96: 46-55.
- Layman, C. et al. 2007. Can stable isotope ratios provide for community-wide measures of trophic structure? – *Ecology* 88: 42-48.
- MacArthur, R. H. and Pianka, E. R. 1966. On Optimal Use of a Patchy Environment. – *Am. Nat.* 100: 603-609.
- MacGarvey, D. and Hughes, R. 2008. Longitudinal zonation of Pacific Northwest (U.S.A.) fish assemblages and the species-discharge relationship. – *Copeia* : 311-321.
- MacHugh, P. et al. 2010. Dual influences of ecosystem size and disturbance on food chain length in streams. – *Ecol. Lett.* 13: 881-890.
- Matthews, W. 1998. *Patterns in Freshwater Fish Ecology*. – Kluwer Academic Publishers.
- Oberdorff, T. et al. 1993. Patterns of fish species richness in the Seine River basin, France. – *Hydrobiologia* 259: 157-167.
- Oberdorff, T. et al. 1998. Non-interactive fish communities in the coastal streams of North-Western France. – *J. Anim. Ecol.* 67: 472-484.
- Oberdorff, T. et al. 2002. Development and validation of a fish-based index for the assessment of 'river health' in France. – *Freshwater Biol.* 47: 1720-1734.
- Petts, G. and Calow, P. 1996. *River Biota: Diversity and Dynamics*. – Blackwell Science.
- Post, D. and Takimoto, G. 2007. Proximate structural mechanisms for variation in food-chain length. – *Oikos* 116: 775-782.
- Post, D. et al. 2007. Getting to the fat of the matter: Models, methods and assumptions for dealing with lipids in stable isotope analyses. – *Oecologia* 152: 179-189.
- Power, M. and Dietrich, W. 2002. Food webs in river networks. – *Ecol. Res.* 17: 451-471.
- Sabo, J. et al. 2009. Food chains in freshwaters. – *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1162: 187-220.

Sabo, J. et al. 2010. The Role of Discharge Variation in Scaling of Drainage Area and Food Chain Length in Rivers. – *Science* : 965-967.

Schwartz, M. et al. 2000. Linking biodiversity to ecosystem function: Implications for conservation ecology. – *Oecologia* 122: 297-305.

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

Townsend, C. and Hildrew, A. 1994. Species traits in relation to a habitat template for river systems. – *Freshwater Biol.* 31: 265-275.

Vannote, R. et al. 1980. The river continuum concept. – *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 37: 130-137.

Werner, R. and Brand, W. 2001. Referencing strategies and techniques in stable isotope ratio analysis. – *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 15: 501-519.

Winemiller, K. et al. 2011. Stable isotope analysis reveals food web structure and watershed impacts along the fluvial gradient of a Mesoamerican coastal river. – *River Res. Appl.* 27: 791-803

Table1: Sites description

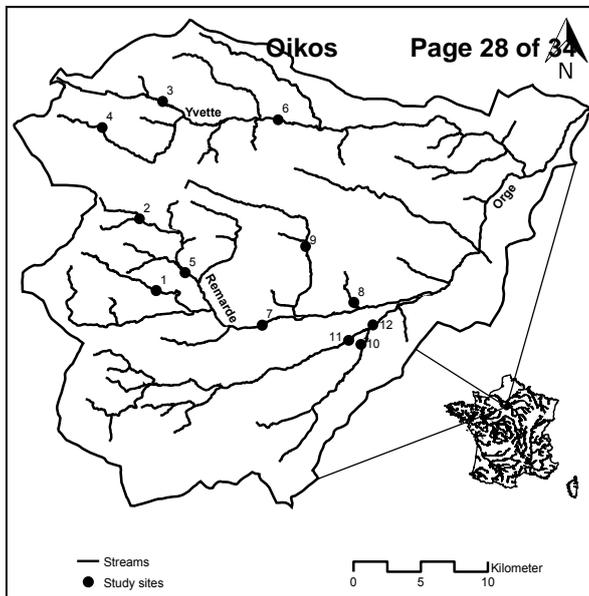
Tributary	Site code	Upstream catchment area	Distance from source	Width	Water depth	Slope	Current velocity	Temperature	Oxygen
		[km ²]	[km]	[m]	[m]	[m/m]	[m/s]	[°C]	[mg/l]
Rabette	1	17	7.9	1.9	0.07	0.004	0.2	15.0	9.5
Aulne	2	24	4.0	2.2	0.16	0.006	0.1	13.0	9.2
Yvette	3	28	6.2	2.4	0.26	0.005	0.3	14.0	9.6
Vaux	4	19	7.6	2.9	0.29	0.004	0.1	13.5	9.2
Aulne	5	58	11.2	2.8	0.17	0.003	0.2	14.5	8.8
Yvette	6	153	16.1	7.0	0.25	0.001	0.4	15.0	9.2
Rémarde	7	178	21.1	6.5	0.39	0.002	0.1	8.8	10.8
Charmoise	8	20	7.2	1.4	0.13	0.009	0.1	13.0	8.2
Prédecelle	9	26	12.4	2.2	0.15	0.005	0.2	12.8	9.7
Renarde	10	91	23.4	2.8	0.26	0.004	0.3	12.0	10.2
Orge	11	115	24.3	4.5	0.44	0.003	0.1	12.0	9.6
Orge	12	210	26.5	5.8	0.32	0.001	0.2	9.0	11.8

Table2: Species sampled from the Orge River in summer 2009. The species are arranged following the trophic guild (H=herbivores, O= omnivores, I=invertivores and P=piscivores) that they belong to, according to literature (Oberdorff et al 1993; Oberdorff et al. 2002). Nbi is the total number of individuals caught by electrofishing, all sites taken together. Nbs is the number of the different sites, where the individuals were found. SIA is the number of fish whose stable isotope ratios were determined. Weight-length relationships ($a \times TL^b$) were given by the coefficients a, b for the Total Length (TL in cm). The coefficients were found in FishBase (Froese and Pauly 2012) and determined for fish coming from Flanders (Yser, Scheldt and Meuse drainage basin), 1992-2009 for all species except Cog (Italy) and Sat (Greece).

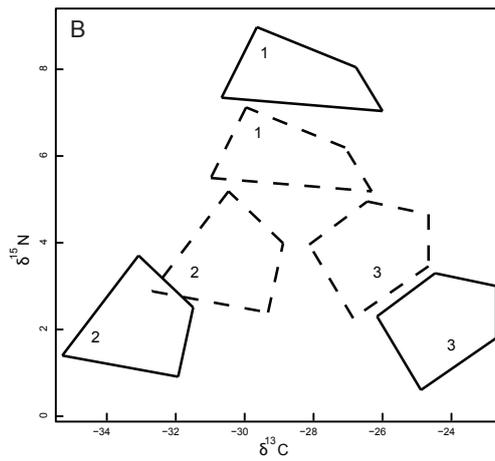
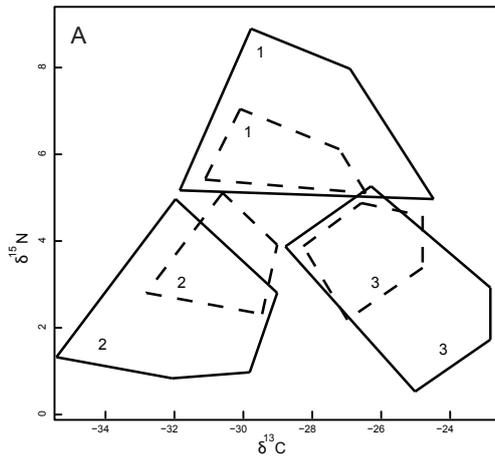
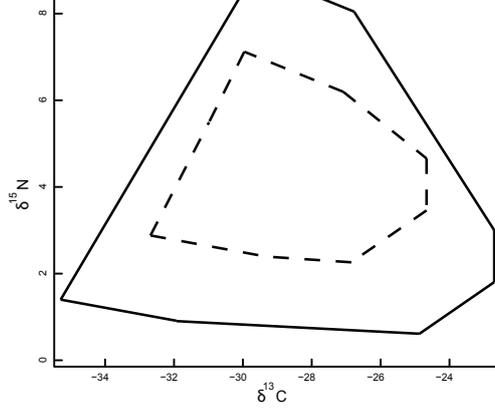
Common name	Scientific name	Species code	Trophic guild	Nbi	Nbs	SIA	a	b
Common dace	<i>Leuciscus leuciscus</i>	Lel	O	12	1	6	0.0052	3.186
Minnow	<i>Phoxinus phoxinus</i>	Php	O	62	2	25	0.0092	3.094
Roach	<i>Rutilus rutilus</i>	Rur	O	45	5	36	0.0062	3.218
Chub	<i>Squalius cephalus</i>	Sqc	O	46	6	29	0.0076	3.117
Stone Loach	<i>Barbatula barbatula</i>	Bab	I	562	12	198	0.006	3.135
Bullhead	<i>Cottus gobio</i>	Cog	I	141	6	40	0.0066	3.304
Stickleback	<i>Gasterosteus aculeatus</i>	Gaa	I	18	6	9	0.0105	3.049
Gudgeon	<i>Gobio gobio</i>	Gog	I	189	7	83	0.0063	3.18
Perch	<i>Perca fluviatilis</i>	Pef	I	65	5	33	0.0075	3.186
Ninespine stickleback	<i>Pungitius pungitius</i>	Pup	I	34	5	5	0.011	3
Zander	<i>Sander lucioperca</i>	Sal	P	2	2	1	0.006	3.059

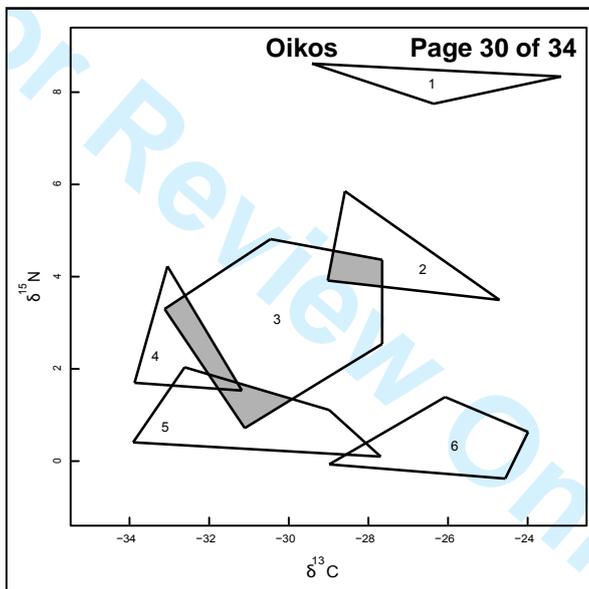
Crucian carp	<i>Carassius carassius</i>	Cac	O	2	1	No	0.0134	3.12
Rudd	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	Scce	O	1	1	No	0.006	3.265
European eel	<i>Anguilla anguilla</i>	Ana	I	1	1	No	0.0011	3.13
Pumpkinseed	<i>Lepomis gibbosus</i>	Leg	I	6	1	No	0.012	3.182
Brown trout	<i>Salmo trutta fario</i>	Sat	I	23	3	No	0.0042	2.95

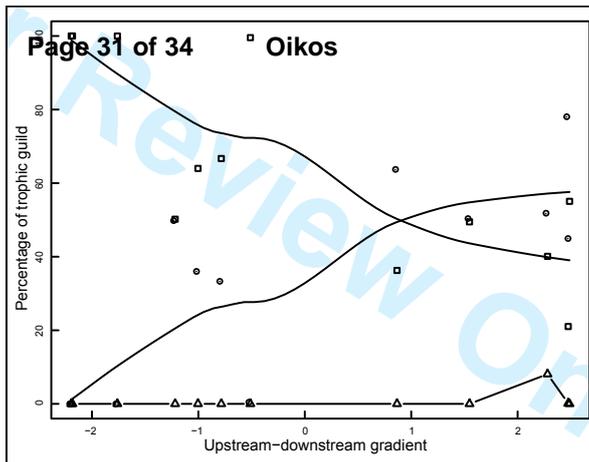
For Review Only

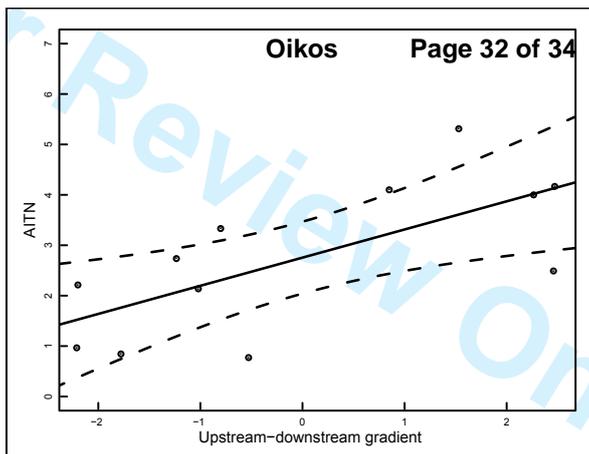


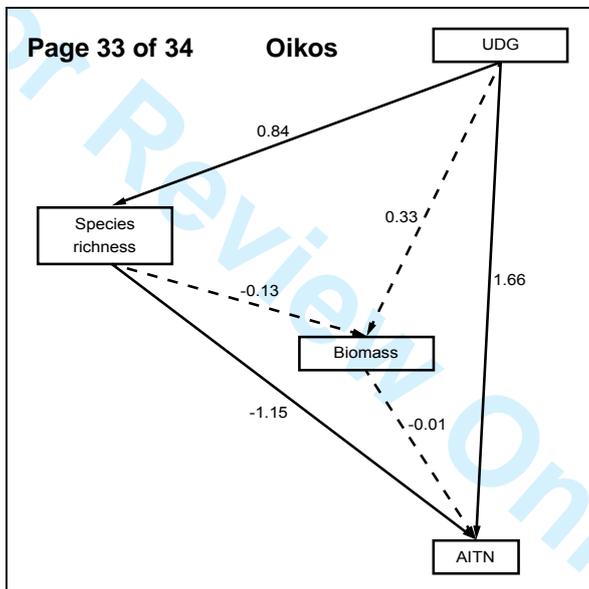
Oikos

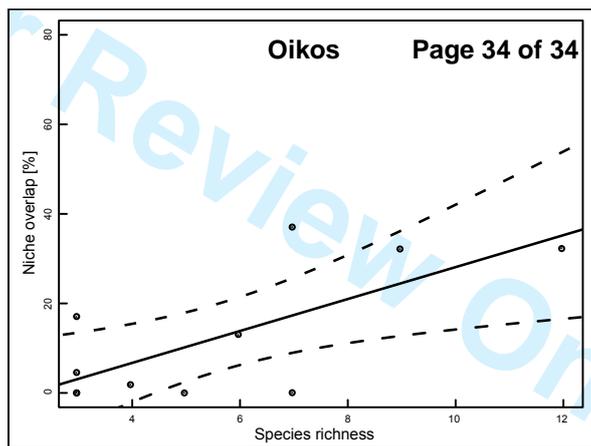


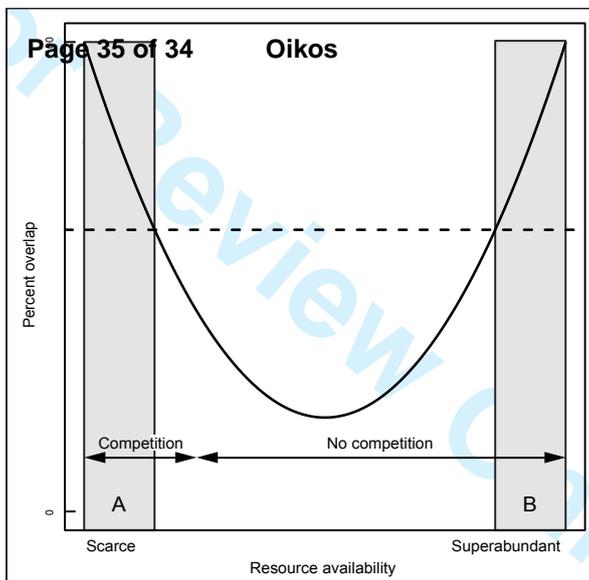












Annexe C

Article 3 : Food chain length and temperature variability : insights from temperate streams

Article soumis le 16 juillet 2012 à la revue
Hydrobiologia

Hydrobiologia

Food chain length and temperature variability: insights from temperate streams

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Full Title:	Food chain length and temperature variability: insights from temperate streams
Article Type:	Primary research paper
Keywords:	stable isotopes; trophic position; food web; macroinvertebrates; brown trout; bullhead
Corresponding Author:	Nicolas Hette Tronquart Irstea Antony, FRANCE
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	Irstea
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Nicolas Hette Tronquart
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Nicolas Hette Tronquart Jean-Marc Roussel Bernard Dumont Virginie Archambault Didier Pont Thierry Oberdorff Jérôme Belliard
Order of Authors Secondary Information:	
Abstract:	<p>Food chain length (FCL) is commonly used in stream ecology to give an overview of ecosystem functioning. Recently, the "dynamic stability hypothesis" has gained empirical support from a study using a multivariate measure of disturbance, integrating water temperature variability for the first time. This suggests that temperature variability alone may constrain FCL.</p> <p>To test this prediction, we chose a small temperate watershed and focused on five largely similar sites but differing in temperature variability. At each site, we (i) studied the structure of macroinvertebrate and fish communities, (ii) estimated realised FCL and (iii) examined food web structure, using N and C stable isotopes.</p> <p>The macroinvertebrate community differed between sites with low and high temperature variability, but the fish community was the same at all sites, thus leaving top predator identity unchanged.</p> <p>FCL was negatively influenced by temperature variability. Using data from the literature, we constructed a highly significant linear model between FCL and temperature variability, confirming this negative trend.</p> <p>Food web structure revealed that trophic position of filter-feeders/shredders was probably responsible for the observed FCL differences between sites. The proximate omnivory mechanism was more likely to apply, but the absence of dietary data prevents to draw an unequivocal conclusion.</p>
Suggested Reviewers:	Frédéric Santoul Université Paul Sabatier santoul@cict.fr Jari A.T. Syväranta

	University of Jyväskylä jari.syvaranta@jyu.fi
	Kirk O. Winemiller Texas A&M University k-winemiller@tamu.edu

1 Nicolas Hette Tronquart^{*a}, Jean-Marc Roussel^b, Bernard Dumont^c, Virginie Archambault^a, Didier Pont^a, Thierry
2 Oberdorff^d and Jérôme Belliard^a.
3
4
5 Food chain length and temperature variability: insights from temperate streams
6
7
8 ^a Irstea, UR HBAN, 1 rue Pierre-Gilles de Gennes, CS 10030, F-92761 Antony, France
9
10 ^b INRA, UMR 985 "Ecologie et Santé des Ecosystèmes", 65 rue de Saint-Brieuc, F-35042 Rennes, France
11
12 ^c Irstea, UR HYAX, 3275 Route de Cézanne, CS 40061, F-13182 Aix-en-Provence, France
13
14 ^d UMR CNRS 7208-IRD 207-MNHN-UPMC "Biologie des Organismes et Ecosystemes Aquatiques", DMPA,
15 Museum National d'Histoire Naturelle, 43 rue Cuvier 75005 Paris, France
16
17 * Correspondence to: Nicolas Hette Tronquart, E-mail: nicolas.hette@edu.mnhn.fr, Phone: +33 (0)1 40 96 61
18 21, Fax: +33 (0)1 40 96 61 99
19

1 Abstract

2

3 Food chain length (FCL) is commonly used in stream ecology to give an overview of ecosystem functioning.

4 Recently, the "dynamic stability hypothesis" has gained empirical support from a study using a multivariate

5 measure of disturbance, integrating water temperature variability for the first time. This suggests that

6 temperature variability alone may constrain FCL.

7 To test this prediction, we chose a small temperate watershed and focused on five largely similar sites but

8 differing in temperature variability. At each site, we (i) studied the structure of macroinvertebrate and fish

9 communities, (ii) estimated realised FCL and (iii) examined food web structure, using N and C stable isotopes.

10 The macroinvertebrate community differed between sites with low and high temperature variability, but the fish

11 community was the same at all sites, thus leaving top predator identity unchanged.

12 FCL was negatively influenced by temperature variability. Using data from the literature, we constructed a

13 highly significant linear model between FCL and temperature variability, confirming this negative trend.

14 Food web structure revealed that trophic position of filter-feeders/shredders was probably responsible for the

15 observed FCL differences between sites. The proximate omnivory mechanism was more likely to apply, but the

16 absence of dietary data prevents to draw an unequivocal conclusion.

17

18

19

20

21

22

23

24

25 Keywords

26 stable isotopes, trophic position, food web, macroinvertebrates, trout, bullhead.

1 **Introduction:**

2 Food webs are essential to understand how ecosystems function. Food webs provide the pathways along which
3 energy is transferred (Hairston Jr and Hairston Sr, 1993), determine nutrient cycling (DeAngelis et al., 1989) and
4 can give insight into the functional response of ecosystems to anthropogenic pressure (Borderelle et al., 2009).
5 One common approach focuses on food-chain length (FCL), which can be defined as the maximal trophic
6 position (TP) reached within a food web (Post, 2002a). FCL integrates both bottom-up and top-down energetic
7 constraints occurring in food webs (Sabo et al., 2009) and constitutes a major characteristic of ecosystem
8 functioning.

9 There are three main hypotheses to explain variations in FCL (Sabo et al., 2009): the "resource availability"
10 hypothesis, the "ecosystem size" hypothesis and the "dynamic stability" hypothesis. Resource availability can
11 constrain FCL, because the energetic efficiency throughout the food web limits the amount of energy reaching
12 upper trophic levels (Lindeman, 1942; Post, 2007). Ecosystem size can positively influence FCL, since large
13 ecosystems generally display greater habitat availability and suitability for top predators (Sabo et al., 2009).
14 Lastly, dynamic stability may act positively on FCL, as specific mathematical models of ecosystems predict that
15 long food chains are dynamically unstable (Pimm and Lawton, 1977).

16 In river ecosystems, this last hypothesis has mostly been addressed using hydrologic variability (but see
17 Townsend et al., 1998) and has often failed to be empirically supported (Post, 2002a; Sabo et al., 2010; Walters
18 and Post, 2008). Recently, McHugh et al. (2010) developed a multidimensional approach to ecosystem stability,
19 combining hydrology, geomorphology and water temperature variables into a single disturbance index. Using
20 this multivariate measure that integrates temperature variability as a potential driver for the first time, McHugh et
21 al. (2010) found a stronger relationship between FCL variations and disturbance patterns. Their result suggests
22 that temperature variability may play a significant role in determining FCL, though this hypothesis was not
23 formally tested in their work.

24 In this study, we focused on the "dynamic stability" hypothesis by examining whether temperature variability
25 alone can influence FCL. For this purpose, stable isotope-based estimates of realised FCL were analysed at five
26 sites displaying similar mean annual water temperatures (7.5–9.5 C) and similar habitat characteristics (Abdoli et
27 al., 2005; Reyjol et al., 2009), but experiencing a sharp contrast in temperature variability (water temperature
28 coefficient of variation [CV] between 19 and 61%). Consequently, our study sites offered the possibility of
29 testing the specific influence of water temperature variability on FCL independently of any other environmental
30 factor. We first investigated how temperature variability affected animal communities at the selected sites.

1 Secondly, we determined the influence of temperature variability on FCLs for the five streams. Lastly,
2 examining the food web structure of the five study sites, we reviewed the three proximate mechanisms (i.e.
3 addition, insertion or omnivory mechanisms) proposed by Post and Takimoto (2007) to discuss how temperature
4 variability may control FCL.

1 **Material and Methods:**

2 Study Sites

3 The five sites are located in different tributaries of the Bez River basin (south-western French Alps, drainage
4 basin area = 275 km², see Fig. 1). This watershed offers the advantage of remaining mainly undisturbed by
5 human activities (e.g. the dominant vegetation is composed of native forest or bush, and agriculture is very
6 extensive (Abdoli et al., 2007; Reyjol et al., 2009)). In addition, the Bez River basin is characterised by a sharp
7 contrast between spring-fed tributaries in karstic formation (north-west) and surface runoff-dominated tributaries
8 (south-east) (see Fig. 1) (Kondolf et al., 2005). The five sites were selected to match this hydro-geological
9 gradient (i.e. to include sites with karst groundwater inputs and sites under the sole influence of runoff regimes).
10 They are located between 500 and 900 m above sea level. Because all of the streams are connected to the same
11 main stem and are very near to each other (<10 km, Fig. 1), they are subjected to similar climatic conditions and
12 are quite homogenous for most of the environmental parameters and habitat characteristics we measured (see
13 Table 1 and Reyjol et al., 2009).

14 *Resource availability*

15 We did not directly measure primary productivity or allochthonous basal resources. However, water quality of
16 the Bez River basin suggests that all five sites have oligotrophic waters (Rhone-Mediterranean and Corsica
17 Water Agency, <http://sierm.eaurmc.fr/eaux-superficielles/index.php>). In addition, the study of the
18 macroinvertebrate communities, based on two of the bio-ecological traits described in Usseglio-Polatera (2000),
19 reveals that the communities are typical of oligo- to mesotrophic streams with xeno- to oligosaprobic waters (see
20 Table 1 and Online resource 1).

21 *Ecosystem size*

22 With the exception of the most downstream site (Bez, BE), located at the basin outlet (river width 17.2 m and
23 upstream drainage area 224 km²), the four other sites display a similar "ecosystem size", with a river width
24 ranging from 3.9 m to 7.7 m and an upstream drainage area from 17 km² to 61 km².

25 *Dynamic stability*

26 To check the hydrological stability of the sites, we calculated the coefficient of variation (CV) of discharge for
27 two contrasted sites Archiane (AR, spring-fed) and Bez (BE, surface run-off dominated), using 23-year records
28 (1980-2003) of daily discharge available from the French Ministry for Environment and Sustainable
29 Development (<http://www.hydro.eaufrance.fr/selection.php>) and found very similar CVs (1.26 for AR and 1.23
30 for BE). Conversely, the CVs of water temperature exhibited strong discrepancies between the five sites (from

1 0.19 to 0.61). In particular, temperature was steadier at spring-fed sites (AR and Nonnières NO) than at the sites
2 influenced by precipitation regime (Borne BO, Gats GA and BE), even if the mean annual temperature at the
3 sites was similar (Table 1 and Fig. 2).

4 5 Sampling

6 Macroinvertebrates and fish were collected during August 2008. We estimated the macroinvertebrate community
7 by sampling a 100 m long reach at each site, in five different combinations of substratum/current velocity
8 characteristics (substratum: 32–256 mm, current velocity: 25–100 cm.s⁻¹), using a 0.05 m² surber sampler
9 (500 µm mesh size). Samples were preserved in formaldehyde and identified in the laboratory with a binocular
10 to the genus level. Bullhead (*Cottus gobio*) and brown trout (*Salmo trutta*) density was estimated by
11 electrofishing, using a battery-powered device (DEKA 3000, Germany), following the point abundance sampling
12 method (Persat and Copp, 1990). At each site, 90 points (representing a surface of 48.6 m²) were sampled.

13 For stable isotope analysis (SIA), we targeted four trophic guilds (i.e. grazers/scrapers, filter-feeders/shredders,
14 predatory macroinvertebrates and invertivorous fish) in order to describe the food web architecture. Sampling for
15 SIA was carried out using a surber sampler for macroinvertebrates and electrofishing for fish.
16 Macroinvertebrates were collected approximately one month before the fish sampling to account for differences
17 in isotope turnover rates between macroinvertebrates and fish. Macroinvertebrates were frozen in situ and kept in
18 the laboratory until further handling. Fish were measured and fin clips were removed from pectoral and second
19 dorsal fins before releasing them. We chose to sample fin instead of muscle, because fin tissue provides a good
20 nonlethal proxy for stable isotope ratios of muscle tissue (Jardine et al., 2005 and unpublished results of a
21 preliminary study in 2007 comparing stable isotope ratios of muscle and fin for ten bullheads of the Bez River).
22 All samples were rinsed in distilled water before preparation for SIA. The list of taxa analysed per site is given in
23 Online Resource 2.

24 25 Stable Isotope Analysis (SIA)

26 Stable isotope food web studies are based on the fractionation between the light and heavy isotopes that occurs
27 during digestion and metabolic processes. For nitrogen, the resulting enrichment in the heavier isotope between a
28 consumer and its diet is substantial (3.4 ± 1.0 ‰; Post, 2002b) and is generally used to distinguish the different
29 trophic levels of a food web. On the other hand, the enrichment for carbon is very low (0.4 ± 1.3 ‰; Post,
30 2002b) and this element is preferentially used to trace the origin of energy that flows into the food web. We

1 analysed nitrogen and carbon stable isotope ratios of 566 samples with a Thermo Electron FlashEA 1112 Series
2 elemental analyser (two reactors setup) coupled with a Thermo Scientific DeltaV Plus Isotope Ratio Mass
3 Spectrometer (EA-IRMS). Because SIA requires a minimum amount of dried organic matter, a sample consisted
4 of a whole organism or of a mixture of organisms for macroinvertebrates. For fish, a sample was composed of
5 the different fin clips of the same individual. Each sample underwent the same preparation prior to analysis.

6 (1) After being freeze-dried, samples were ground to powder and precisely weighed ($\pm 10 \mu\text{g}$) in tin
7 capsules (for each tissue type, we performed a preliminary analysis using the mass spectrometer, in order
8 to determine the weight that gave an optimal signal during SIA).

9 (2) Then samples were analysed in sequences with three empty tin capsules for blank correction and two
10 international reference materials (N1 and USG) for linear normalisation. One internal reference
11 (acetanilide) was analysed regularly as a quality control measure.

12 (3) Resulting isotope ratios R (i.e. $^{15}\text{N} / ^{14}\text{N}$ and $^{13}\text{C} / ^{12}\text{C}$) were expressed in conventional delta notation
13 (δ), relative to the international standards, atmospheric air for N ($R = 3678.2 \pm 1.5 \cdot 10^{-6}$, Werner and
14 Brand, 2001) and Pee Dee Belemnite limestone for C (V-PDB $R = 11180.2 \pm 2.8 \cdot 10^{-6}$, Werner and
15 Brand, 2001). The analytical error associated with our $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ sample runs was estimated at 0.1
16 and 0.3‰, respectively, based on the standard deviation of the internal standard over the whole period of
17 analysis (01/2009–08/2009).

18 (4) Isotope ratios of all samples were normalised to account for isotope baseline variation. Considerable
19 spatial variation in $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ exists at the base of food webs and prevents absolute isotope signals
20 from providing information about trophic level or the ultimate source of carbon (Cabana and Rasmussen,
21 1996; Vander Zanden and Rasmussen, 1999). In order to account for this variation and to focus only on
22 the isotope ratio variations due to changes in food web functioning, the isotope signals at the base of the
23 food webs, called the isotope baseline, have to be determined. To define the isotope baseline, we
24 followed the recommendations of Anderson and Cabana (2007), who specifically addressed this issue in
25 the case of temperate streams. We first examined the differences in $\delta^{15}\text{N}$ among primary consumer
26 functional feeding groups to select the organisms that show the lowest $\delta^{15}\text{N}$ values and the broadest
27 spatial distribution. In our case, *Baetis sp.* and *Protonemura sp.*, two relatively long-lived
28 macroinvertebrates, displayed the lowest $\delta^{15}\text{N}$ ratios, and were the only primary consumers that inhabit
29 all the sites. Their feeding ecology has been thoroughly described (Tachet et al., 2010) indicating that
30 living microphytes and FPOM constitute their major diet. No size effect on $\delta^{15}\text{N}$ values was detected and

1 no significant taxonomic difference was observed between the 2 taxa (Wilcoxon rank sum test, p-value =
 2 0.114). Consequently, the $\delta^{15}\text{N}$ isotope baseline (IB_N) is obtained by averaging the $\delta^{15}\text{N}$ values of the two
 3 taxa. Using the same method, we calculated the $\delta^{13}\text{C}$ isotope baseline (IB_C) with the same two taxa. Then,
 4 for each site, nitrogen (respectively, carbon) isotope ratios of all samples were normalised by subtracting
 5 the nitrogen (respectively, carbon) isotope baseline (IB) calculated as:

$$6 \quad \boxed{IB_i = \frac{B_i + P_i}{2}} \quad (1)$$

7 where B_i is the average isotope signal of element i for *Baetis*, P_i is the average isotope signal of element i
 8 for *Protonemura* and element i is nitrogen or carbon.

10 Data analysis

11 First, we compared the biological communities of the five sites. We began by considering representative taxa
 12 whose ecology is well-known. We examined quantitatively (Whittaker index; Whittaker and Fairbanks, 1958)
 13 macroinvertebrate community similarity between sites.

14 Second, the FCL at each site was estimated, using the maximum TP convention (McHugh et al., 2010). The TP
 15 of each taxon t at each site was calculated as:

$$16 \quad \boxed{TP_t = \frac{\delta^{15}\text{N}_t}{\Delta} + \lambda} \quad (2)$$

17 where $\delta^{15}\text{N}_t$ is the arithmetic mean of the nitrogen isotope signal of taxon t (corrected for isotope baseline), Δ is
 18 the trophic fractionation rate (i.e. 3.4 ‰, (Post, 2002b)), and λ is the TP of the baseline (i.e. 2). FCL, defined as
 19 the maximal TP, was calculated by taking the highest TP_t values obtained for all taxa at a specific site.

20 To account for sources of variability in FCL estimates, such as organism nitrogen excretion (Vanderklift and
 21 Ponsard, 2003) or temperature (Power et al., 2003), we conducted a first randomisation test, introducing
 22 variation around the fractionation rate and around the isotope baseline. For this, we randomly sampled 5000
 23 trophic fractionation rates (1000 for each site) from a normal distribution $\mathcal{N}(3.4, 0.96)$, truncated at 0.5 and
 24 5.5 ‰ (on the basis of the distribution obtained with observed fractionation rates in the review by Post (2002b)).
 25 We also calculated 1000 new IB_N for each site, from 1000 random values of B_N and P_N using Equation 1. At
 26 each site, a B_N (respectively P_N) value was obtained by averaging five $\delta^{15}\text{N}$ values randomly sampled from a
 27 site-specific normal distribution, $\mathcal{N}(\mu, \sigma)$, with μ = average $\delta^{15}\text{N}$ ratio observed for *Baetis* (respectively
 28 *Protonemura*) and σ = variance of the $\delta^{15}\text{N}$ values observed at this site for *Baetis* (respectively *Protonemura*).

1 We then calculated 1000 FCL estimates for each site with Equation 2, using the 1000 random fractionation rates
2 and the 1000 random IB_N . From these FCL estimates, we deduced the error associated with the variability of the
3 fractionation rate and of the isotope baseline. Using a pairwise Wilcoxon rank sum test, we also tested whether
4 these major sources of variability on FCL affected the observed pattern between the five sites.

5 In order to assess the significance level of the FCL-differences observed between sites, we carried out a second
6 randomisation test, postulating the null hypothesis that "FCL variance between sites was due to randomness". To
7 do so, we randomly reallocated the data with regard to the biological community structure (the data obtained had
8 the same samples distribution per taxa and per site as the original data; see Online Resource 2). FCL was then
9 calculated for each site and the FCL variance between sites was determined. These steps were reiterated 999
10 times and the distribution of FCL variances obtained by randomisation was compared to the original FCL
11 variance. The significance level was the proportion of variances that were greater than or equal to the original
12 variance in the randomisation distribution. We conducted this test with the five sites together and with each pair
13 of sites for a pairwise comparison.

14 In addition, we analysed the form and significance of the relationship between FCL and the CV of water
15 temperature during various time frames (one month, three months, and one year before sampling). We also
16 constructed a linear model with data on FCL values and temperature variability (CV of temperature) available
17 (but not formally analysed) in the study of McHugh et al. (2010) on 16 sites located in New Zealand streams.
18 Because our five sites all contained fish, we withdrew the two fishless New Zealand sites from the analysis, in
19 order to make meaningful between-site comparisons (Layman et al., 2007).

20 Spearman correlation tests were conducted to test whether pairwise FCL differences among all five sites were
21 related to macroinvertebrate community dissimilarities. We also examined the structural change of the food web
22 between the five sites, using nonparametric comparisons of the TPs of the four targeted trophic guilds (Kruskal-
23 Wallis rank sum tests and pairwise Wilcoxon rank sum tests) in order to identify the mechanisms responsible for
24 FCL changes.

1 **Results:**

2 Biological community

3 All the studied streams are located in the geographical distribution of the Plecoptera *Dinocras cephalotes*. AR
4 and NO differed from the other sites in harbouring a greater abundance of cold water taxa such as the
5 Trichoptera *Philopotamus montanus*, the Ephemeroptera *Baetis alpines* and the Turbellaria *Crenobia alpina*. BE
6 and GA were characterised by a greater abundance of more thermophilic taxa such as the Ephemeroptera
7 *Acentrella sinaica*, *Baetis rhodani*, *Torleya* and the presence of *Oligoneuriella* (found only in BE).
8 Macroinvertebrate density of AR was three times greater than BO and NO densities and almost two times greater
9 than BE and GA densities. Two fish species were present at all sites: bullhead (*C. gobio*) and brown trout (*S.*
10 *trutta*), corresponding to the species living in the Bez River basin (Table 1). The top predator was brown trout
11 for all sites but BE, for which the maximal trophic position was reached by bullhead. The fish density pattern
12 was the exact opposite of macroinvertebrate density pattern between sites (the lowest density was observed for
13 AR; BE and GA had middle values, whereas the highest densities were found at BO and NO, Table 1).
14 Macroinvertebrate taxa richness (Table 1) was very similar between AR, NO, BO and GA (45-47); only BE had
15 a slightly higher richness (52). Quantitatively, similarity indices were low (mean index value = 41 %). Only
16 AR/NO and BE/GA exhibited an index greater than 60 %, indicating high similarity between sites. BO was the
17 only site whose index value was systematically lower than 45 %, indicating poor similarity with the other sites.

18

19 FCL

20 Food chains were longest at NO (3.5) and AR (3.4), intermediate at GA (3.3) and shortest at BE (3.2) and BO
21 (3.2). The errors in FCL associated with the major sources of variability (isotope fractionation and isotope
22 baseline) ranged from 0.5 to 0.7 trophic levels (AR = 0.7, NO = 0.7, GA = 0.7, BE = 0.5, BO = 0.6). FCL
23 estimates obtained with the first randomisation test were significantly different between the five sites (Kruskal-
24 Wallis rank sum test, p-value < 0.001). The pairwise comparisons between two sites were all significantly
25 different, excepting the comparison between BE and BO (pairwise Wilcoxon rank sum test, p-value < 0.001 for
26 all comparisons but BE/BO: p-value = 0.209). The second randomisation test showed that FCL variance between
27 sites (0.022) was always greater than the 999 FCL variances obtained by chance, thus rejecting the null
28 hypothesis of randomness in FCL values (randomisation test, p-value = 0.001). Most of the pairwise
29 comparisons indicated that FCL variance between two sites was significantly different from the variance
30 obtained by randomisation (see Online Resource 3). Only two comparisons (AR/NO and BE/BO) did not reject

1 the null hypothesis of randomness. Even if FCL variance was not due to randomness and a general decrease of
2 FCL values with CV of temperature can be identified (e.g. see white triangles Fig. 3), simple relationships
3 (linear, quadratic) between FCL and temperature variability for our five sites remained statistically not
4 significant. Similar relationships were obtained whatever the timeframe used to calculate temperature variability.
5 Using the data available in McHugh et al. (2010), we found a highly significant negative relationship between
6 FCL and the CV of temperature ($R^2=0.64$, $P<0.001$) (Fig. 3). Moreover, our own data appeared to fit well within
7 this relationship (Fig. 3).

8 Food web structure

10 The FCL differences between each pair of sites were not significantly related to macroinvertebrate community
11 similarities based on Whittaker Index (p -value = 0.973). General food web organisation was very similar
12 between sites (Fig. 4). Grazers and scrapers had the lowest $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ values, whereas filter feeders and
13 shredders were the most enriched in ^{13}C but occupied nearly the same trophic level. Predatory
14 macroinvertebrates showed an intermediate isotopic signal for both nitrogen and carbon isotopes and were ^{15}N -
15 enriched compared to the other macroinvertebrates. Invertivorous fish were always the most ^{15}N -enriched taxon
16 and displayed relatively high $\delta^{13}\text{C}$ values. AR was the only site to distinguish itself. At this site, there was an
17 overlap between the isotopic values of the four trophic guilds with a continuous enrichment in ^{15}N from
18 grazers/scrapers up to invertivorous fish. Additionally, filter feeders/shredders presented a higher enrichment in
19 ^{15}N than at the other sites, being almost at the same trophic level as predatory macroinvertebrates. Comparing the
20 TP of the four trophic guilds between the five sites, grazers/scrapers occupied a similar TP at all sites, whereas
21 there were significant inter-site differences for the three other guilds (see Online Resource 4). On the whole,
22 multiple comparison tests showed that groundwater-fed sites (AR and NO) differed from runoff-dominated sites
23 (BE, BO and GA) (see Online Resource 4). The TP of filter-feeders/shredders, predatory macroinvertebrates and
24 invertivorous fish were higher at AR and NO than at the other sites (e.g. Online Resource 5). These tests further
25 strengthened the particularity of AR, where filter-feeders/shredders and predatory macroinvertebrates had the
26 highest TP (see Online Resource 5).

27

1 **Discussion:**

2 Three hypotheses are most often presented in the literature to explain FCL variation (Sabo et al., 2009): the
3 “resource availability”, the “ecosystem size” and the “dynamic stability” hypotheses. Considering the “resource
4 availability” hypothesis, water quality as well as macroinvertebrate community structure indicate that all sites
5 display similar oligotrophic and oligosaprobic waters. Consequently, our sites only cover a small gradient of
6 resource availability, which is certainly too limited to see any effect on FCL. For instance, McHugh et al. (2010)
7 considered a much broader gradient of streams, along which available resources increased 22-fold, but failed to
8 give empirical support to the “resource availability” hypothesis. Concerning the “ecosystem size” hypothesis, the
9 sites were selected to have a drainage area variation of only one order of magnitude. In comparison to other
10 studies, this is far too low to observe an influence on FCL. Only studies that consider a broad range of ecosystem
11 size (like the study of Sabo et al. (2010) with a variation of more than six orders of magnitude in drainage area)
12 report a significant increase of FCL with ecosystem size. Concerning the “dynamic stability” hypothesis, the
13 hydro-geological gradient induces a sharp contrast in temperature variability between sites, while the
14 hydrological stability remains similar between ground-water fed and surface-runoff dominated sites.
15 Consequently, from the three hypotheses, the environmental characteristics of our sites have made it possible to
16 focus on the “dynamic stability” hypothesis and to study, for the first time, the effect of temperature variability
17 on food webs, without the confounding effects of other strong environmental factors.

18
19 Biological community

20 Despite the great thermal discrepancies, macroinvertebrate taxa richness is similar at the five sites. Nevertheless,
21 there are poor quantitative similarities between the different biological communities. Only AR/NO and BE/GA
22 show analogous communities. At the taxa level, AR and NO are characterised by cold water taxa typical of
23 headwater reaches, whereas BE and GA harbour some taxa related to medium-sized streams. These similarities
24 seem to be related to the sites thermal regime, with AR and NO having the most stable temperatures but also the
25 coldest summer temperatures (see Table 1 and Fig. 2). Interestingly but not surprisingly (see Death, 2008), the
26 study of biological communities reveals that temperature variability has a slight influence on the
27 macroinvertebrate composition. On the contrary, fish species composition is the same at all sites except for size
28 and life span (Abdoli et al., 2007), and top predator identity does not appear to be related to temperature
29 variability, in accordance with McHugh et al. (2010).

1 FCL

2 The variability of fractionation rate and stable isotope baseline causes a FCL standard deviation of 0.5 to 0.7
3 trophic levels. It is a high level of error in comparison with the 0.2 trophic levels commonly associated with
4 fractionation rate variability (Vander Zanden and Rasmussen, 2001). Taking these sources of variability into
5 account, FCL estimates remain significantly different between the five sites. Thus, the FCL pattern observed
6 between the five sites cannot be explained by inter-site differences in fractionation rate or by the uncertainty
7 associated with the isotope baseline. Randomness cannot be put forward either, to explain FCL variability
8 between sites, because original variability was always greater than variability obtained by randomisation. As the
9 five sites only differ in their temperature variability, the observed FCL differences are certainly due to the
10 differences in temperature variability. Even if our data (only five sites) cannot establish a significant relationship
11 between temperature variability and FCL, a clear negative trend is noticeable, which is in accordance with and
12 gives further support to the "dynamic stability hypothesis". This trend fits well within the highly significant
13 linear model we constructed with data from 14 New Zealand streams (McHugh et al., 2010). In addition to
14 McHugh et al. (2010) finding that disturbance, as a multivariate combination of hydrology, temperature, and
15 geomorphology variables, negatively affects FCL, our study advances a step further by proposing that
16 temperature variability alone can reduce FCL.

17

18 Food web structure

19 Even if we targeted a priori the same four trophic guilds in our sampling, the biological communities were
20 slightly different between sites. The observed differences in species assemblages and in temperature variability
21 could induce such trophic shifts that a same taxon would not necessary belong to the same trophic guild at
22 different sites (Woodward et al., 2010a). Nevertheless, we observe a notable functional similarity between the
23 five sites. Grazers/scrapers are always more ¹³C-depleted than filter-feeders/shredders whatever the site,
24 indicating the existence of the two conventional energy pathways in river ecosystems: the algal-grazer pathway,
25 relying on the production of phytoplankton, benthic microalgae and plants via photosynthesis (Thorp and
26 Delong, 2002), and the decomposer pathway, relying on organic matter consumers and microbial loop. Only AR
27 presents a slightly different structure, where the TPs of filter-feeders/shredders are higher and overlap with the
28 TPs of predatory macroinvertebrates. For this particular case, we hypothesise that the energy pathway leading to
29 filter-feeders/shredders is slightly different at AR (e.g. including other microorganisms) and causes a ¹⁵N-
30 enrichment compared to the other sites. Despite the similar food web architecture (two conventional energy

1 pathways leading to top predator), $\delta^{15}\text{N}$ values suggest that the TPs of all trophic guilds except grazers/scrapers
2 are significantly higher at the spring-fed sites (AR and NO) than at the surface runoff-dominated sites (BE, BO,
3 and GA). Again, we posit that the different energy pathway leading to filter-feeders/shredders at AR and NO
4 causes a direct increase in the TP of filter-feeders/shredders but also an indirect increase for predatory
5 macroinvertebrates and invertivorous fish. As the TPs of grazers/scrapers are similar between the five sites, we
6 assume that the longer FCLs found at the spring-fed sites are mainly due to the higher TPs of the filter-
7 feeders/shredders guild.

8 To investigate why FCL decreased with temperature variability, we reviewed all the proximate mechanisms
9 described in Post and Takimoto (2007) that might control FCL. The first proximate mechanism is called
10 "addition mechanism" and explains that the introduction of a new predator on the top of the web increases FCL.
11 This mechanism does not apply here because the predatory fish species at the top of the web do not vary among
12 the sites. The size differences observed for fish in Abdoli et al. (2007) is not explanatory either because the size
13 distribution of the fish used for SIA in this study is very similar at the five sites. The second mechanism, called
14 "insertion mechanism", proposes that the insertion of intermediate consumers between primary producers and
15 top predators can induce a dietary shift in different parts of the food web, and finally change the trophic position
16 of the top predators. This second mechanism could explain our results since biological communities are slightly
17 different among sites. However, it should be noted that the food web structures remain very similar despite these
18 differences. Moreover, we find no relationship between FCL differences and macroinvertebrate community
19 similarities, leading us to conclude that the FCL differences between sites are not directly related to biological
20 community change. Consequently, this mechanism alone cannot explain the observed patterns. The third
21 mechanism, called "omnivory mechanism", posits that a change in the degree of trophic omnivory implies a
22 change in FCL. For instance, an increase in trophic omnivory within lacustrine food webs can reduce FCL (Post
23 et al., 2000). In our study, we expect that greater temperature variability implies higher energy costs for aquatic
24 organisms to cope with stressful conditions induced by rapid changes in temperature. With constant resource
25 availability, organisms would likely become more opportunistic in order to meet their energy needs, increasing
26 trophic omnivory, and finally reducing FCL. However, in the absence of dietary data, it is difficult to draw an
27 unequivocal conclusion regarding the real influence of this mechanism.

28
29 This study sheds a new light on the "dynamic stability" hypothesis, showing that temperature variability alone
30 can reduce FCL. To our knowledge, this is the first time that the influence of temperature variability on FCL has

1 been tested. Most research to date dealing with the effects of temperature on stream ecology has focused on
2 temperature impact at lower levels of biological organisation (Woodward et al., 2010b). The study, described in
3 Woodward et al. (2010b), is one of the very few studies that discusses the effects of temperature on stream food
4 web. In this work, the authors report that the food chain increases by 0.6 trophic levels when mean stream
5 temperature increases from 6.8 to 23.5 °C. In comparison, we find that FCL decreases by 0.8 trophic levels when
6 the coefficient of variation of temperature increases from 0.02 to 0.61 (calculated using our model developed
7 with the data of McHugh et al. (2010)). This last result shows that while the direct effect of temperature on FCL
8 is usually positive, the effect of temperature variability on FCL is negative.

1 Acknowledgments:

2

3 We gratefully acknowledge Virginie Raymond for assistance in the field and sample preparation. Stable isotope
4 analyses were carried out with EA-IRMS at Cemagref/Irstea Antony, Research Unit HBAN with the patient
5 support of Jonathan Epissard. Bernard Hugueny and Olivier Delaigue gave helpful recommendations for
6 statistical analysis. We also thank Michel Sanchez for kindly allowing us to work on his properties and for his
7 welcome. We express our gratitude towards Julien Peschard, who created the site map. We thank Deborah
8 Slawson for copyediting the initial manuscript. This work was funded by the French Ministry of Ecology and
9 Sustainable Development (MEDDAD) under a “Global Change and demographic strategies of fish populations”
10 contract (APR Biodiversity and Climate Change 2005), 2007–2009.

1 **References:**

- 2 Abdoli, A., D. Pont & P. Sagnes, 2005. Influence of female age, body size and environmental conditions on
3 annual egg production of the bullhead. *Journal of Fish Biology* 67: 1327-1341.
- 4 Abdoli, A., D. Pont & P. Sagnes, 2007. Intrabasin variations in age and growth of bullhead: The effects of
5 temperature. *Journal of Fish Biology* 70: 1224-1238.
- 6 Anderson, C. & G. Cabana, 2007. Estimating the trophic position of aquatic consumers in river food webs using
7 stable nitrogen isotopes. *Journal of the North American Benthological Society* 26: 273-285.
- 8 Borderelle, A. L., D. Gerdeaux, P. Giraudoux & V. Verneaux, 2009. Influence of watershed's anthropogenic
9 activities on fish nitrogen and carbon stable isotope ratios in nine French lakes. *Knowledge and
10 Management of Aquatic Ecosystems*: 1-13.
- 11 Cabana, G. & J. B. Rasmussen, 1996. Comparison of aquatic food chains using nitrogen isotopes. *Proceedings of
12 the National Academy of Sciences of the United States of America* 93: 10844-10847.
- 13 DeAngelis, D. L., S. M. Bartell & A. L. Brenkert, 1989. Effects of Nutrient Recycling and Food-Chain Length
14 on Resilience. *The American Naturalist* 134: 778-805.
- 15 Death, R. G., 2008. The effect of flood on aquatic invertebrate communities. In Lancaster, J. & R. A. Briers
16 (eds), *Aquatic Insects: Challenges to Populations*. CABI, Oxford, UK: 103-121.
- 17 Hairston Jr, N. G. & N. G. Hairston Sr, 1993. Cause-effect relationships in energy flow, trophic structure, and
18 interspecific interactions. *American Naturalist* 142: 379-411.
- 19 Jardine, T. D., R. J. Hunt, B. J. Pusey & S. E. Bunn, 2011. A non-lethal sampling method for stable carbon and
20 nitrogen isotope studies of tropical fishes. *Marine and Freshwater Research* 62: 83-90.
- 21 Kondolf, G. M., D. R. Montgomery, H. Piégay & L. Schmitt, 2005. Geomorphic Classification of Rivers and
22 Streams. In Kondolf, G. M. & H. Piégay (eds), *Tools in Fluvial Geomorphology*. John Wiley & Sons,
23 Ltd, Chichester: 171-204.
- 24 Layman, C. A., D. A. Arrington, C. G. Montaña & D. M. Post, 2007. Can stable isotope ratios provide for
25 community-wide measures of trophic structure? *Ecology* 88: 42-48.
- 26 Lindeman, R. L., 1942. The Trophic-Dynamic Aspect of Ecology. *Ecology* 23: 399-417.
- 27 McHugh, P. A., A. R. McIntosh & P. G. Jellyman, 2010. Dual influences of ecosystem size and disturbance on
28 food chain length in streams. *Ecology Letters* 13: 881-890.
- 29 Persat, H. & G. H. Copp, 1990. Electric fishing and point abundance sampling for the ichthyology of large
30 rivers. In Cowx, I. G. (ed), *Developments in Electric Fishing*. Kluwer, Amsterdam: 197-209.

- 1 Pimm, S. L. & J. H. Lawton, 1977. Number of trophic levels in ecological communities. *Nature* 268: 329-331.
- 2 Post, D. M., 2002a. The long and short of food-chain length. *Trends in Ecology and Evolution* 17: 269-277.
- 3 Post, D. M., 2002b. Using stable isotopes to estimate trophic position: Models, methods, and assumptions.
- 4 *Ecology* 83: 703-718.
- 5 Post, D. M., 2007. Testing the productive-space hypothesis: Rational and power. *Oecologia* 153: 973-984.
- 6 Post, D. M., M. L. Pace & N. G. Hairston, 2000. Ecosystem size determines food-chain length in lakes. *Nature*
- 7 405: 1047-1049.
- 8 Post, D. M. & G. Takimoto, 2007. Proximate structural mechanisms for variation in food-chain length. *Oikos*
- 9 116: 775-782.
- 10 Power, M., K. R. R. A. Guiguer & D. R. Barton, 2003. Effects of temperature on isotopic enrichment in *Daphnia*
- 11 magna: Implications for aquatic food-web studies. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 17:
- 12 1619-1625.
- 13 Reyjol, Y., J. P. Léna, F. Hervant & D. Pont, 2009. Effects of temperature on biological and biochemical
- 14 indicators of the life-history strategy of bullhead *Cottus gobio*. *Journal of Fish Biology* 75: 1427-1445.
- 15 Sabo, J. L., J. C. Finlay, T. Kennedy & D. M. Post, 2010. The Role of Discharge Variation in Scaling of
- 16 Drainage Area and Food Chain Length in Rivers. *Science*: 965-967.
- 17 Sabo, J. L., J. C. Finlay & D. M. Post, 2009. Food chains in freshwaters. *Annals of the New York Academy of*
- 18 *Sciences* 1162: 187-220.
- 19 Tachet, H., P. Richoux, M. Bournaud & P. Usseglio-Polatera, 2010. *Invertébrés d'eau douce: Systématique,*
- 20 *biologie, écologie.*, 2 edn. CNRS Editions, Paris.
- 21 Thorp, J. H. & M. D. Delong, 2002. Dominance of autochthonous autotrophic carbon in food webs of
- 22 heterotrophic rivers. *Oikos* 96: 543-550.
- 23 Townsend, C. R., R. M. Thompson, A. R. McIntosh, C. Kilroy, E. Edwards & M. R. Scarsbrook, 1998.
- 24 Disturbance, resource supply, and food-web architecture in streams. *Ecology Letters* 1: 200-209.
- 25 Usseglio-Polatera, P., M. Bournaud, P. Richoux & H. Tachet, 2000. Biomonitoring through biological traits of
- 26 benthic macroinvertebrates: How to use species trait databases? *Hydrobiologia* 422-423: 153-162.
- 27 Vander Zanden, M. J. & J. B. Rasmussen, 1999. Primary consumer $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ and the trophic position of
- 28 aquatic consumers. *Ecology* 80: 1395-1404.
- 29 Vander Zanden, M. J. & J. B. Rasmussen, 2001. Variation in $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ trophic fractionation: Implications
- 30 for aquatic food web studies. *Limnology and Oceanography* 46: 2061-2066.

- 1 Vanderklift, M. A. & S. Ponsard, 2003. Sources of variation in consumer-diet $\delta^{15}\text{N}$ enrichment: A meta-analysis.
2 *Oecologia* 136: 169-182.
- 3 Walters, A. W. & D. M. Post, 2008. An experimental disturbance alters fish size structure but not food chain
4 length in streams. *Ecology* 89: 3261-3267.
- 5 Werner, R. A. & W. A. Brand, 2001. Referencing strategies and techniques in stable isotope ratio analysis. *Rapid*
6 *Communications in Mass Spectrometry* 15: 501-519.
- 7 Whittaker, R. H. & C. W. Fairbanks, 1958. A Study of Plankton Copepod Communities in the Columbia Basin,
8 Southeastern Washington. *Ecology* 39: 46-65.
- 9 Woodward, G., J. P. Benstead, O. S. Beveridge, J. Blanchard, T. Brey, L. E. Brown, W. F. Cross, N. Friberg, T.
10 C. Ings, U. Jacob, S. Jennings, M. E. Ledger, A. M. Milner, J. M. Montoya, E. O'Gorman, J. M. Olesen,
11 O. L. Petchey, D. E. Pichler, D. C. Reuman, M. S. A. Thompson, F. J. F. Van Veen & G. Yvon-
12 Durocher, 2010a. Ecological Networks in a Changing Climate. *Advances in Ecological Research* 42:
13 71-138.
- 14 Woodward, G., J. B. Dybkjaer, J. S. Ólafsson, G. M. Gislason, E. R. Hannesdóttir & N. Friberg, 2010b. Sentinel
15 systems on the razor's edge: Effects of warming on Arctic geothermal stream ecosystems. *Global*
16 *Change Biology* 16: 1979-1991.
- 17

1 **Tables:**

2

3 **Table 1 : Site characteristics**

		AR	NO	BE	BO	GA
Elevation	mean [m]	689	679	522	862	681
River width (2002)	mean [m]	6.9	3.9	17.2	4.0	7.7
River slope	mean [m.km ⁻¹]	2.6	3.4	1.2	4.3	3.2
Water depth (08/2007)	mean [cm]	25	22	23	14	19
Substratum (08/2007)	<32 mm [%]	10	30	7	10	10
	32 à 128 mm [%]	27	40	70	53	53
	>128 mm [%]	63	30	23	37	37
Flow velocity (08/2007)	mean [cm.s ⁻¹]	50	44	53	48	45
Oxygen concentration (08/2008)	mean [mg.l ⁻¹]	10.94	11.36	12.06	9.38	8.9
Conductivity (08/2008)	mean [µS.cm ⁻¹]	251.67	303	292.67	320.33	325
Temperature (08/2007 - 08/2008)	mean [°C]	7.52	8.10	9.51	7.09	8.51
	C.V.	0.19	0.21	0.37	0.51	0.61
Invertebrates community (2008)	species richness	47	46	52	46	45
<i>Cottus gobio</i> density (2008)	[individuals.100 m ⁻²]	107	148	173	142	130
<i>Salmo trutta</i> density (2008)	[individuals.100 m ⁻²]	53	97	21	78	43

1 **Figure captions:**

2

3 **Fig. 1** Study sites. AR = Archiane, NO = Nonnières, BO = Borne, GA = Gats, BE = Bez

4

5 **Fig. 2** Water temperature variations for two typical sites (AR, spring-fed, white circles and GA, surface runoff-
6 dominated, black triangles) between 2007 and 2009

7

8 **Fig. 3** Relationship between FCL and CV of temperatures. Addition of the FCL values obtained for our five sites
9 (white triangles) in the linear model (black line) obtained using data from the study of McHugh et al. (2010)
10 (black circles). Dashed lines represent the prediction interval of the model at the 0.95 level ($R^2=0.64$, $p<0.001$)

11

12 **Fig. 4** Food web structure for the five sites. Polygons represent the niche of four trophic guilds. Points represent
13 mean isotope values of each taxon. Isotope ratios are corrected for normalisation (see Method)

1 **Captions for supplementary material**

2 **Online Resource 1** Resource availability: study of the macroinvertebrate communities

3 **Online Resource 2** List of taxa analysed at each site with the number of independent samples for each site

4 **Online Resource 3** Significance level of the randomisation tests conducted on FCL variance between each pair
5 of sites, for pairwise comparison

6 **Online Resource 4** *P*-values of pairwise Wilcoxon rank sum tests for comparing the trophic positions of each
7 trophic guild at the five sites. Wilcoxon tests were carried out only if the preliminary Kruskal-Wallis rank sum
8 test was significant

9 **Online Resource 5** Comparison of the trophic positions (TP) of the four trophic guilds at the five sites

Figure 1

[Click here to download Figure: Fig1.eps](#)

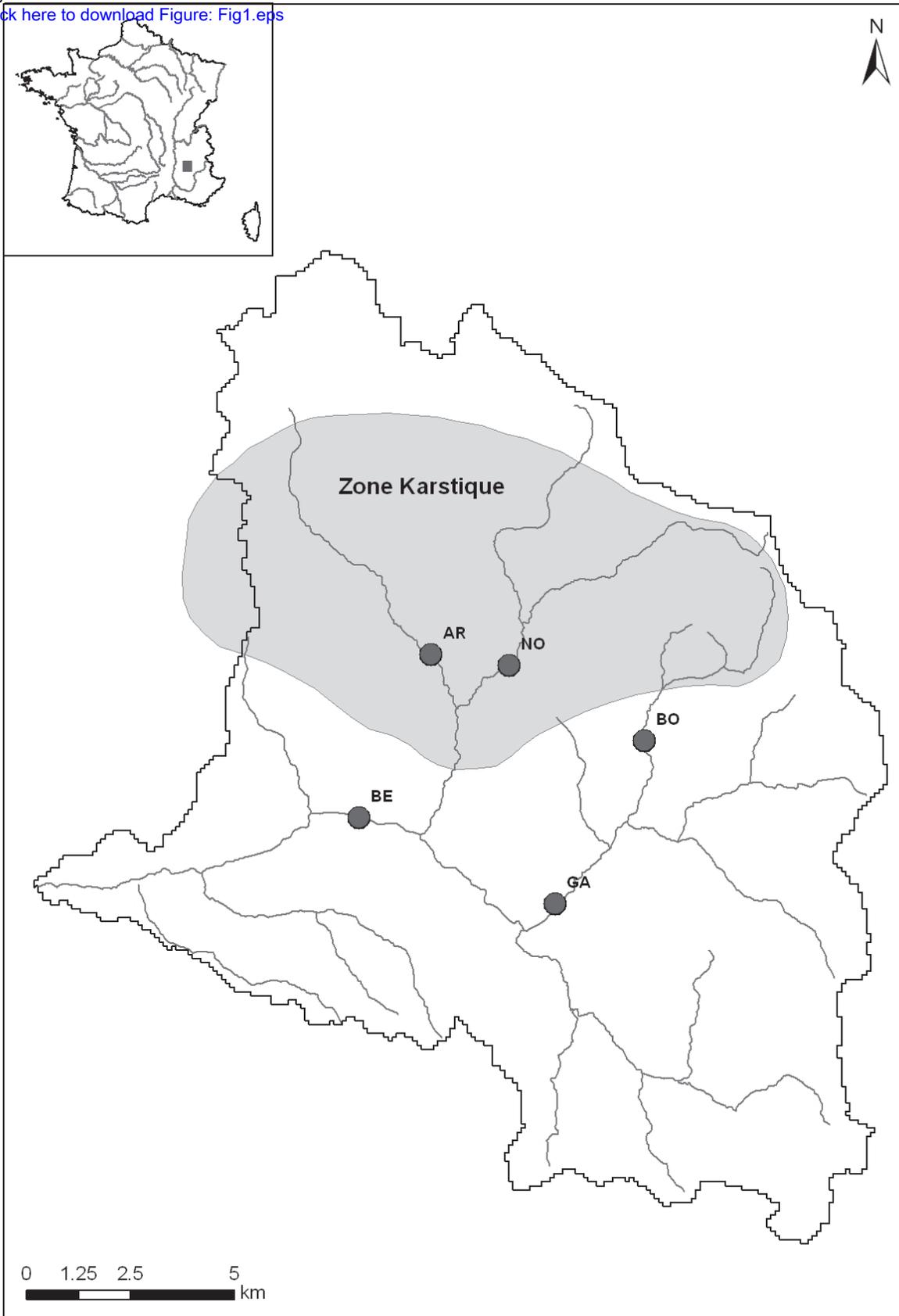


Figure 2

[Click here to download Figure: Fig2.eps](#)

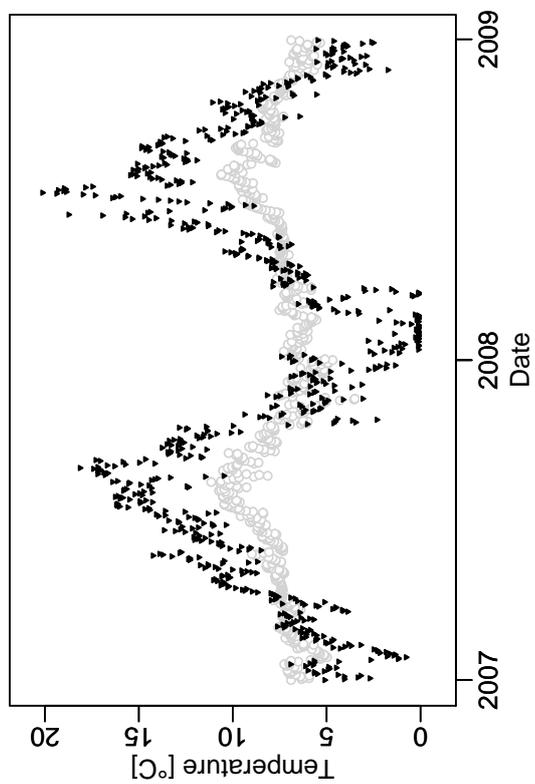


Figure 3

[Click here to download Figure: Fig3.eps](#)

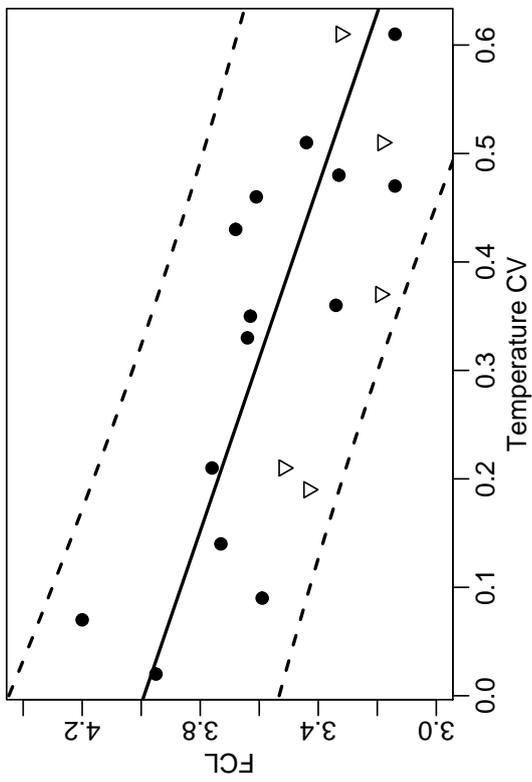
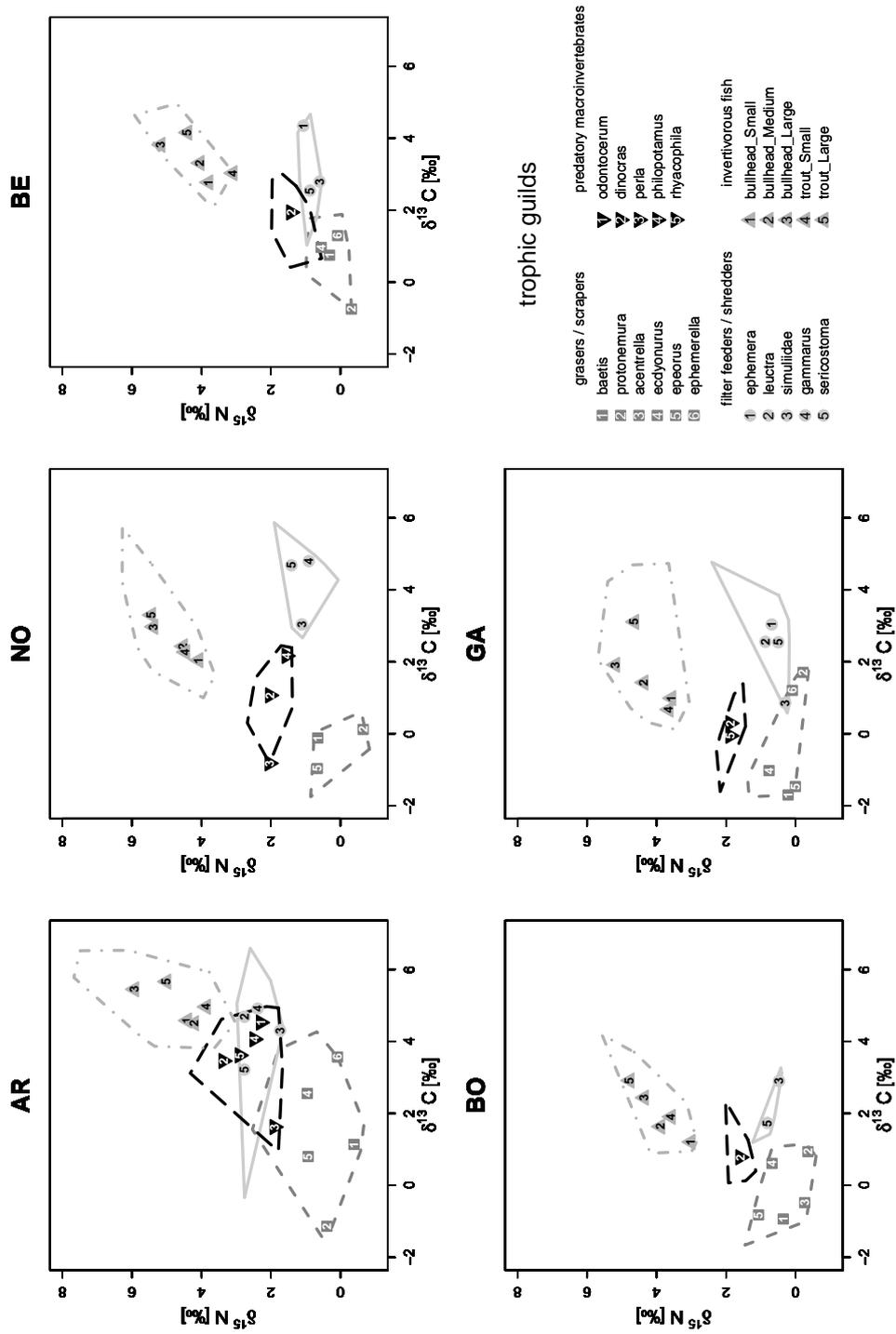


Figure 4

[Click here to download Figure: Fig4.eps](#)



Online Resource 1:

Food chain length and temperature variability: insights from temperate streams. *Hydrobiologia*, Hette Tronquart et al..

Irstea, UR HBAN, 1 rue Pierre-Gilles de Gennes, CS 10030, F-92761 Antony, France
nicolas.hette@edu.mnhn.fr

Resource availability: study of the macroinvertebrate communities

Principle

It is largely known that habitat profoundly affects stream communities (Townsend and Hildrew, 1994) and many studies have tried to link habitat characteristics to species traits (Usseglio-Polatera et al., 2000). Conversely, the study of species traits gives insight into the type of habitat. Based on this idea, we calculated the bio-ecological profiles of the macroinvertebrate communities, to infer some habitat characteristics related to resource availability.

Trophic status and saprobity

Here, we focused on two of the bio - ecological traits described at genus level in Usseglio - Polatera et al. (2000): the trophic status and the saprobity, because they are the most related to resource availability. Trophic status reveals the preferred level of nutrients of a taxon, and saprobity indicates the affinity of a taxon for organic matter pollution. The two traits are described by 3 and 5 categories, respectively (see Table 1). Using the fuzzy coding approach developed by Chevenet et al. (1994), we assigned a score to each trait categories for each taxon. A score describes the taxon affinity to a category from "0" indicating "no affinity" to "5" indicating "high affinity" (see Table 1 for an example).

Table 1: Fuzzy coding of the two ecological traits. Example for two taxa (Baetis and Dinocras).

Taxa (genus level)	Trophic status			Saprobity				
	oligotrophic	mesotrophic	eutrophic	xenosaprobic	oligosaprobic	β -mesosaprobic	α -mesosaprobic	polysaprobic
Baetis	3	3	3	1	2	3	1	0
Dinocras	3	0	0	1	3	0	0	0

Describing the traits of the whole macroinvertebrate community

For each trait, we transformed the absolute scores into relative affinity scores (see Table 2). For each site, the relative abundances of the taxa were calculated with the help of the faunal lists of the macroinvertebrates sampled in August 2008 at the 5 studied sites (Table 3). We weighted the relative scores of a taxon for the trait categories by its relative abundance at the site (see Table 2).

Table 2: Weighted scores of the trait categories: example of Baetis for the AR site

Categories	Trophic status			Saprobity				
	oligotrophic	mesotrophic	eutrophic	xenosaprobic	oligosaprobic	β -mesosaprobic	α -mesosaprobic	polysaprobic
absolute score	3	3	3	1	2	3	1	0
relative score	0.33	0.33	0.33	0.14	0.29	0.43	0.14	0.00
weighted score	0.10	0.10	0.10	0.04	0.08	0.12	0.04	0.00

Then, for each category, we summed up the weighted scores of all taxa and obtained a general score, describing the affinity of the site-specific set of macroinvertebrates to the trait modality. To summarise, the general score (S_g) of a trait modality at one site is given by Equation 1:

Equation 1

$$S_g = \sum_{list_of_taxa} A_i \times S_i$$

where S_i is the relative score of the taxon i , and A_i is the relative abundance of taxon i at the site.

Table 3: Faunal lists of the macroinvertebrates sampled in August 2008 at the 5 studied sites

order	family	taxon	AR	NO	BE	BO	GA
Plecoptera	Nemouridae	Amphinemura	24	7	434		194
Plecoptera	Nemouridae	Nemoura	59	3	2	4	51
Plecoptera	Nemouridae	Protonemura	261	46	79	113	67
Plecoptera	Leuctridae	Leuctra	257	45	64	396	177
Plecoptera	Perlodidae	Perlodidae			1		
Plecoptera	Perlodidae	Isoperla	8		1	5	12
Plecoptera	Perlodidae	Perlodes		4	12	5	
Plecoptera	Perlidae	Dinocras	3	7	126	5	56
Plecoptera	Chloroperlidae	Chloroperlidae	1		4		
Trichoptera	Rhyacophilidae	Rhyacophila	2	17	12	14	12
Trichoptera	Rhyacophilidae	Hyporhyacophila	14	24		7	5
Trichoptera	Hydroptilidae	Agraylea		1			
Trichoptera	Philopotamidae	Philopotamus	52	36		1	
Trichoptera	Philopotamidae	Wormaldia					1
Trichoptera	Hydropsychidae	Hydropsyche	2	57	128	3	141
Trichoptera	Limnephilidae	Limnephilidae		2			
Trichoptera	Goeridae	Silo		2			
Trichoptera	Sericostomatidae	Sericostoma	2	2	3	7	1
Trichoptera	Odontoceridae	Odontocerum	15	4	1	1	
Ephemeroptera	Baetidae	Baetis	1383	500	577	41	772
Ephemeroptera	Baetidae	Acentrella sinaica			22		125
Ephemeroptera	Oligoneuriidae	Oligoneuriella			1		
Ephemeroptera	Heptageniidae	Heptageniidae	1		11	1	2
Ephemeroptera	Heptageniidae	Epeorus	6	48	192	135	672
Ephemeroptera	Heptageniidae	Rhithrogena	2	1	6	24	155
Ephemeroptera	Heptageniidae	Ecdyonurus	2	2	166	6	62
Ephemeroptera	Ephemerellidae	Ephemerella	12	3	22	3	1
Ephemeroptera	Ephemerellidae	Torleya			2		3
Ephemeroptera	Caenidae	Caenis		2	3	1	1
Ephemeroptera	Leptophlebiidae	Leptophlebiidae			6		
Ephemeroptera	Leptophlebiidae	Habroleptoides			1	1	
Ephemeroptera	Ephemeridae	Ephemera			4		2
Coleoptera	Hydraenidae	Hydraena	39	8	2	13	
Coleoptera	Hydrophilidae	Hydrophilidae					1
Coleoptera	Dryopidae	Pomatinus					3
Coleoptera	Elmidae	Elmis	11	1	6	1	
Coleoptera	Elmidae	Esolus	7	16	4	17	6
Coleoptera	Elmidae	Oulimnius			1		1
Coleoptera	Elmidae	Limnius	6	2	5	12	3
Coleoptera	Elmidae	Riolus	6	1		16	47
Coleoptera	Helodidae	Helodidae			1		

order	family	taxon	AR	NO	BE	BO	GA
Diptera	Limoniidae	Hexatomini	3	53	1		
Diptera	Limoniidae	Limoniini	5		2	6	
Diptera	Limoniidae	Pediciini	3			2	
Diptera	Psychodidae	Psychodidae	7				
Diptera	Limoniidae	Eriopterini		1		2	2
Diptera	Dixidae	Dixidae					1
Diptera	Simuliidae	Simuliidae	214	137	132	13	135
Diptera	Chironomidae	Orthoclaadiinae	1515	161	332	238	26
Diptera	Chironomidae	Chironomini	1	2	6	13	8
Diptera	Chironomidae	Tanytarsini	77	34	49	69	64
Diptera	Chironomidae	Tanypodinae	5	6	21	1	27
Diptera	Ceratopogonidae	Ceratopogoninae	6	5	33	37	5
Diptera	Empididae	Hemerodromiinae	1	3		5	2
Diptera	Empididae	Clinocerinae	32	9	3	9	4
Diptera	Tabanidae	Tabanidae				1	
Diptera	Athericidae	Atherix	56	26	1	15	11
Gammaridae	Gammaridae	Gammarus	325	8	2	1	
Trombidiformes	Hydrachnidiae	Hydrachnidae	125	46	158	14	16
Oligochaeta	Oligochaeta	Oligochaeta	68	274	147	193	32
Tricladida	Dugesidae	Dugesia	217	27			
Tricladida	Planariidae	Polycelis	5	8	1		
Tricladida	Planariidae	Crenobia		14			
Anthomedusae	Hydridae	Hydra	1				
Rissoidea	Amnicolidae	Bythinella				1	
Nematoda	Nematoda	Nematoda	1		4	2	3

density [nb of ind. / m²] 19368 6620 11164 5816 11636

Preferendum of the macroinvertebrate communities and inference for resource availability

Comparing the preferendum of the five sites, we see that for all the sites, the sets of taxa were typical for oligotrophic waters (Figure 1, trophic status trait) and for xenosaprobic to oligosaprobic waters (Figure 1, saprobity trait).

This indicates that the sets of taxa are particularly well adapted to very low level of nutrients and are very susceptible to organic matter pollution. In other words most of the taxa found at the five sites would not have been found in streams with high level of nutrients and high level of organic matter. Last, the five sites present the same pattern of preferendum for the two traits, indicating that they display similar low resource availability.

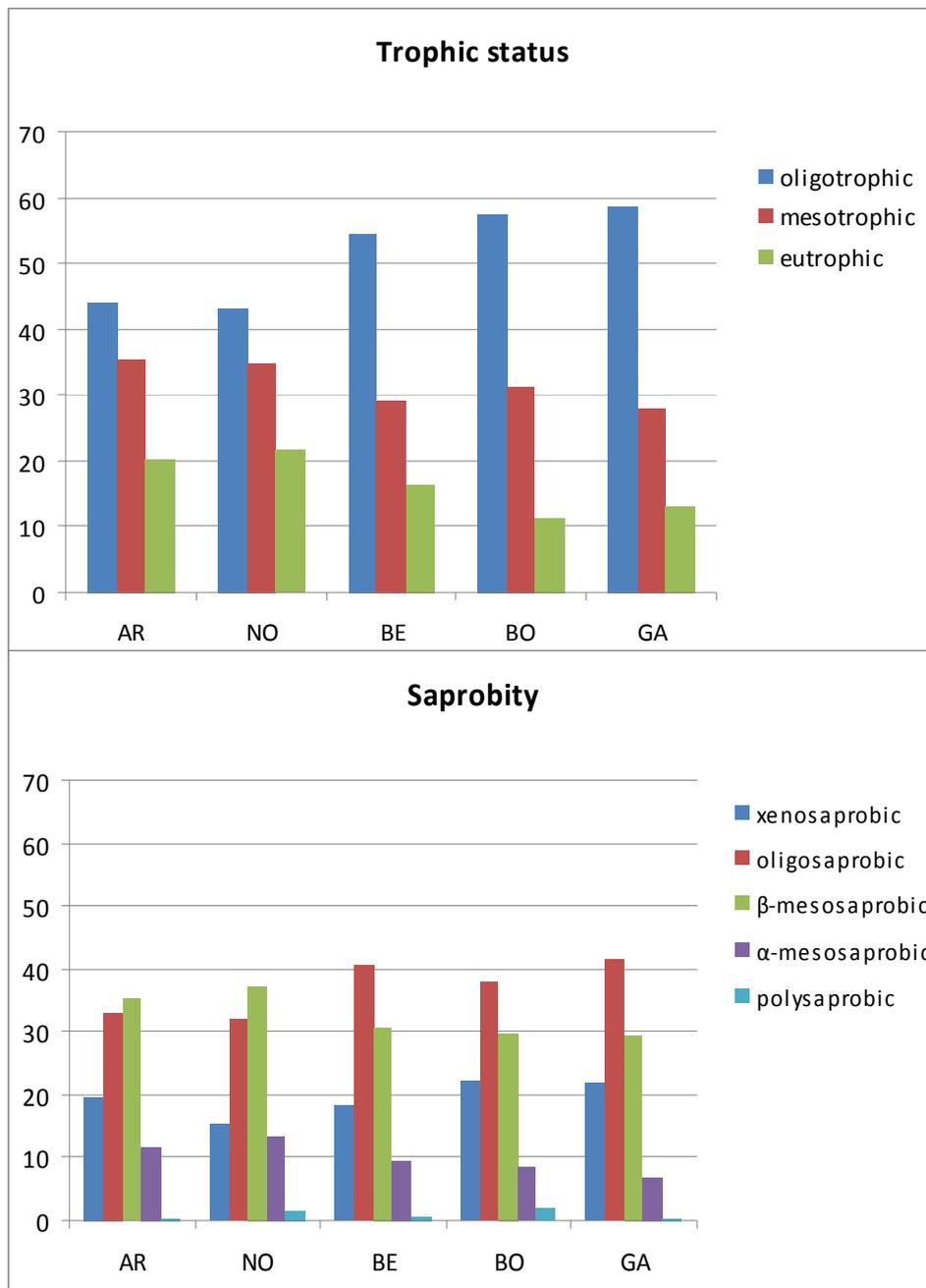


Figure 1: Preferendum of the whole macroinvertebrate community at the five sites for the two traits (trophic status and saprobity)

Literature:

- Chevenet, F., S. Dolédec & D. Chessel, 1994. A fuzzy coding approach for the analysis of long-term ecological data. *Freshwater Biology* 31: 295-309.
- Townsend, C. R. & A. G. Hildrew, 1994. Species traits in relation to a habitat templet for river systems. *Freshwater Biology* 31: 265-275.
- Usseglio-Polatera, P., M. Bournaud, P. Richoux & H. Tachet, 2000. Biomonitoring through biological traits of benthic macroinvertebrates: How to use species trait databases? *Hydrobiologia* 422-423: 153-162.

Online Resource 2:

Food chain length and temperature variability: insights from temperate streams. Hydrobiologia, Hette Tronquart et al..

Irstea, UR HBAN, 1 rue Pierre-Gilles de Gennes, CS 10030, F-92761 Antony, France
nicolas.hette@edu.mnhn.fr

List of taxa analysed at each site with the number of independent samples for each site.

Name of Taxa	Mixture of several organisms per sample	AR	NO	BE	BO	GA	Targeted trophic guild	
bryophyta	irrelevant	5	5	5	0	0	primary producer	
cladophora	irrelevant	0	5	5	5	0	primary producer	
<i>acentrella</i>	yes	0	0	0	1	0	grazers/scrapers	
<i>baetis</i>	yes	5	5	5	5	1	grazers/scrapers	
<i>protonemura</i>	yes	5	5	1	5	5	grazers/scrapers	
<i>ecdyonurus</i>	yes	18	0	12	4	9	grazers/scrapers	
<i>epeorus</i>	yes	3	2	0	3	1	grazers/scrapers	
<i>ephemerella</i>	yes	1	0	4	0	1	grazers/scrapers	
<i>ephemera</i>	no	0	0	3	0	10	filter feeders/shredders	
<i>leuctra</i>	yes	4	0	0	0	1	filter feeders/shredders	
<i>simuliidae</i>	yes	5	5	5	5	5	filter feeders/shredders	
<i>gammarus</i>	yes	10	9	0	0	0	filter feeders/shredders	
<i>sericostoma</i>	yes	3	5	10	6	5	filter feeders/shredders	
<i>odontocerum</i>	yes	5	0	0	0	0	predatory macroinvertebrate	
<i>dinocras</i>	no	5	10	25	10	14	predatory macroinvertebrate	
<i>perla</i>	no	3	1	0	0	0	predatory macroinvertebrate	
<i>philopotamus</i>	yes	1	10	0	0	0	predatory macroinvertebrate	
<i>rhyacophila</i>	yes	5	0	0	0	1	predatory macroinvertebrate	
<i>Cottus gobio</i>	l < 80 [mm]	no	6	10	11	5	5	invertivorous fish
	80 < l < 110 [mm]	no	20	20	29	21	31	invertivorous fish
	110 < l [mm]	no	14	10	2	14	4	invertivorous fish
<i>Salmo trutta</i>	l < 100 [mm]	no	2	6	2	9	3	invertivorous fish
	100 < l [mm]	no	14	14	5	5	17	invertivorous fish

Online Resource 3:

Food chain length and temperature variability: insights from temperate streams. *Hydrobiologia*, Hette Tronquart et al..

Irstea, UR HBAN, 1 rue Pierre-Gilles de Gennes, CS 10030, F-92761 Antony, France
nicolas.hette@edu.mnhn.fr

Significance level of the randomisation tests conducted on FCL variance between only two sites, for side-by-side comparison.

<i>P</i>-value	NO	BE	BO	GA
AR	0.324	0.039	0.001	0.054
NO		0.001	0.001	0.001
BE			0.911	0.070
BO				0.004

Online Resource 4:

Food chain length and temperature variability: insights from temperate streams. *Hydrobiologia*, Hette Tronquart et al..

Irstea, UR HBAN, 1 rue Pierre-Gilles de Gennes, CS 10030, F-92761 Antony, France
 nicolas.hette@edu.mnhn.fr

***P*-values of pairwise Wilcoxon rank sum tests for comparing the trophic positions of each trophic guild at the five sites. Wilcoxon tests were carried out only if the preliminary Kruskal-Wallis rank sum test was significant.**

		Trophic Position				
Grazers/scrapers		Kruskal-Wallis ($p = 0.252$) No difference between the sites.				
		Kruskal-Wallis ($p = 7.66e-13$)	AR	NO	BE	BO
Filter- feeders/shredders	NO	0.000	NA	NA	NA	
	BE	0.000	0.037	NA	NA	
	BO	0.000	0.014	0.055	NA	
	GA	0.000	0.001	0.001	0.074	
Predatory macroinvertebrates		Kruskal-Wallis ($p = 5.596e-14$)	AR	NO	BE	BO
	NO	0.000	NA	NA	NA	
	BE	0.000	0.000	NA	NA	
	BO	0.000	0.271	0.249	NA	
	GA	0.002	0.271	0.000	0.106	
Invertivorous fish		Kruskal-Wallis ($p = 5.56e-12$)	AR	NO	BE	BO
	NO	1.000	NA	NA	NA	
	BE	0.002	0.000	NA	NA	
	BO	0.000	0.000	1.000	NA	
	GA	0.101	0.006	0.001	0.000	

Online Resource 5:

Food chain length and temperature variability: insights from temperate streams. *Hydrobiologia*, Hette Tronquart et al..

Irstea, UR HBAN, 1 rue Pierre-Gilles de Gennes, CS 10030, F-92761 Antony, France
nicolas.hette@edu.mnhn.fr

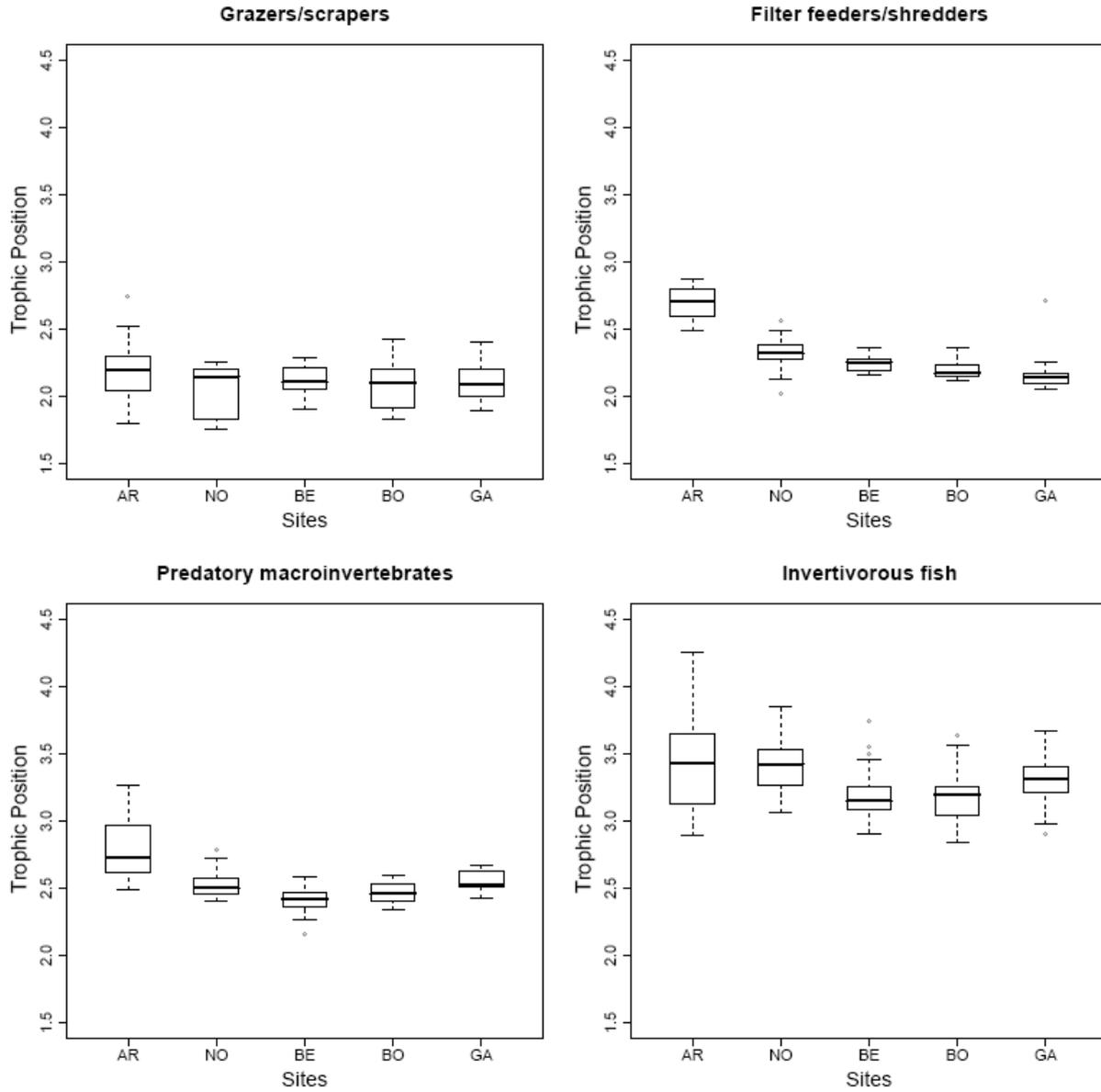


Figure 2: Comparison of the trophic positions (TP) of the four trophic guilds in the five sites.

Annexe D

Utilisation de l'analyseur élémentaire

D.1 Configuration de l'analyseur élémentaire

TABLEAU D.1 – Configuration de l'analyseur élémentaire

Paramètre	Valeur
Réglage de la température	
Four	920 °C
Colonne chromatographique	45 °C
Réglage des flux	
Carrier	100 ml/min
Reference	250 ml/min
O ₂	150 ml/min
Paramètres d'injection	
Injection End	2 s
Sampling delay	18 s
Cycle run time	60 s

D.2 Opérations de maintenance pour l'analyseur élémentaire

TABLEAU D.2 – Opérations de maintenance pour l'analyseur élémentaire

Opération	Fréquence indicative
Retrait des cendres et ajout laine de quartz	tous les 100 échantillons
Nettoyage du passeur à l'air comprimé	tous les 300 échantillons
Remplacement du four	tous les 300 échantillons
Changement des joints d'étanchéité du four	à chaque remplacement de four
Remplacement de la trappe à eau	à chaque remplacement de four
Changement des joints d'étanchéité de la trappe à eau	tous les 2 à 3 mois
Regénération de la colonne chromatographique (190 °C pendant 48 h)	tous les 2 à 3 mois

Annexe E

Utilisation du spectromètre de masse

E.1 Préparation de l'appareil

TABLEAU E.1 – Opérations de conditionnement du spectromètre de masse

Opération	Fréquence indicative
Stabilisation du signal	avant chaque séquence
Contrôle du niveau d'Argon	avant chaque séquence
Contrôle du niveau d'eau	avant chaque séquence
Jump calibration	avant chaque séquence
Réglage de l'amplitude des pulses de référence	chaque matrice analysée
Linéarité de la source	tous les 2 à 3 mois
Signal isotopique des gaz de référence	chaque changement de bouteille de gaz

E.2 Analyses de routine

TABLEAU E.2 – Analyses de routine permettant de réduire l'erreur analytique

Type	Fréquence
Analyse des blancs	au début de chaque séquence
Analyse des standards	au début de chaque séquence
Analyse des K-facteurs	au début de chaque séquence
Analyse des QC	toutes les 7 analyses

E.3 Corrections des signaux isotopiques

TABLEAU E.3 – Ordre des corrections effectuées sur les signaux isotopiques

Correction	Signification
Ré-intégration manuelle des pics	intégration automatique pas toujours correcte
Correction de linéarité	différence d'amplitudes entre pics et pulses de référence
Correction des blancs	signal isotopique en carbone des nacelles d'étaing significatif
Correction de la dérive	variation des signaux isotopiques au cours d'une séquence d'analyse
Correction des standards	variation des signaux isotopiques des gaz de référence au cours du temps

Annexe F

Abréviation des noms d'espèces de poissons

F.1 Signification des abréviations utilisées

TABLEAU F.1 – Correspondances entre abréviation, nom scientifique et vernaculaire

Abréviation	Nom scientifique	Nom vernaculaire
Rha	<i>Rhodeus amarus</i>	Bouvière
Sqc	<i>Squalius cephalus</i>	Chevaine
Php	<i>Phoxinus phoxinus</i>	Vairon
Lel	<i>Leuciscus leuciscus</i>	Vandoise
Rur	<i>Rutilus rutilus</i>	Gardon
Bab	<i>Barbatula barbatula</i>	Loche
Gog	<i>Gobio gobio</i>	Goujon
Cog	<i>Cottus gobio</i>	Chabot
Pef	<i>Perca fluviatilis</i>	Perche
Gaa	<i>Gasterosteus aculeatus</i>	Épinoche
Pup	<i>Pungitus pungitus</i>	Épinochette
Sal	<i>Sander lucioperca</i>	Sandre

L'étude des réseaux trophiques est un prérequis à la compréhension du fonctionnement des écosystèmes. Cependant, les déterminants potentiels des réseaux trophiques (disponibilité des ressources, stabilité et taille de l'écosystème) restent discutés. Dans ce contexte, 3 nouvelles questions portant sur les réseaux trophiques des cours d'eau sont abordées par l'analyse des isotopes stables. Une première étude confirme le rôle structurant du gradient amont-aval dans le fonctionnement des cours d'eau, en précisant son influence directe et indirecte sur le réseau trophique piscicole. Une deuxième étude montre l'incidence négative de la variabilité du régime thermique des cours d'eau sur la longueur de chaîne trophique et apporte un nouveau soutien au déterminant « stabilité de l'écosystème ». Enfin, une troisième étude explore les effets de l'occupation des sols à 2 échelles spatiales, et suggère une influence complexe jouant sur la diversité des ressources et des niveaux trophiques du réseau.