

## Accord Cadre ZABR - Agence de l'Eau

### Fiche projet

## DispEff - Estimation des distances de dispersion effective des insectes en cours d'eau par l'analyse moléculaire et isotopique de leurs œufs

**TITRE DU PROJET :** « DispEff » : Estimation des distances de dispersion effective des insectes en cours d'eau par l'analyse moléculaire et isotopique de leurs œufs

**RESPONSABLES SCIENTIFIQUES DU PROJET :**

Maria Alp (INRAE RiverLy, EcoFlowS)  
Sylvain Dolédec (UMR 5023 – LEHNA)

**EQUIPES DE RECHERCHES ZABR CONCERNEES et CONTACT SCIENTIFIQUE DE L'EQUIPE**

*(équipe membre ou associée de la ZABR)*

INRAE RiverLy, EcoFlowS : Thibault Datry, Maxence Forcellini, Bertrand Launay (contact scientifique : Maria Alp)  
UMR 5023 – LEHNA : Laurent Simon, Mathieu Floury (contact scientifique : Sylvain Dolédec)

**AUTRES PARTENAIRES**

-

**THEME DE RATTACHEMENT ZABR**

Flux formes, habitat, biocénose

**THEME DE RATTACHEMENT AGENCE DE L'EAU -QUESTIONS AGENCE DE L'EAU**

Thème : La protection, la restauration des milieux et les gains écologiques

Thématique : Identification des processus soutenant le bon fonctionnement des hydrosystèmes

**SITE OU OBSERVATOIRE DE RATTACHEMENT ZABR**

Vallée de l'Ain, Confluences et (dis)Continuités

**RESUME DU PROJET GLOBAL**

Résumé :

Organisés dans des réseaux dendritiques avec un fort gradient des conditions physiques entre l'amont et l'aval, les cours d'eau imposent de fortes contraintes sur les organismes qui les habitent. Aujourd'hui exposés à une multitude de pressions anthropiques dont les effets continueront à s'accroître (Carpenter et al 2011), ces milieux reçoivent une attention toute particulière des politiques publiques avec l'établissement de réservoirs biologiques et des obligations légales imposant de réaliser des opérations de restauration pour protéger la biodiversité qu'ils accueillent (LEMA 2006). Dans ce contexte, le rôle primordial de la connectivité des réseaux

fluviaux permettant les échanges entre les populations au sein des réseaux et assurant la (re)colonisation des habitats a été reconnu par de multiples travaux (Tonkin et al., 2014 ; Hughes 2007 ; Crabot 2019), et la prise en compte de la dispersion paraît indispensable pour prédire les futures distributions des espèces dans les bassins versants (Heino et al. 2017). La difficulté tient à notre compréhension des processus de dispersion, encore largement incomplète pour beaucoup d'organismes, notamment ceux avec des cycles de vie complexes, comme les insectes aquatiques qui possèdent plusieurs stades de vie, d'une durée et avec des traits morphologiques et comportementaux très différents (Heino et al. 2017). Une approche souvent employée dans les modèles de distribution des espèces consiste à utiliser des traits biologiques liés à la dispersion comme indicateurs de leur capacité de déplacement et comme base pour estimer les distances moyennes de dispersion (e.g. Radinger et al., 2017). Une limite importante de cette approche est qu'elle se base sur une *capacité potentielle de déplacement*, tandis que le processus qui nous intéresse est celui d'une *dispersion effective* (mais voir Engler et al. 2012 pour un exemple en milieu terrestre) permettant une colonisation effective des taches d'habitat (Lancaster & Downes 2017). Pour beaucoup d'insectes aquatiques, c'est le stade terrestre réalisant une dispersion aérienne et assurant la reproduction qui joue un rôle clef dans ce processus (Hughes 2007).

Alors qu'il existe des travaux sur les distances franchies par les larves d'insectes aquatiques (Elliott, 2003), celles parcourues pendant la phase aérienne adulte restent très peu connues. Une des rares méthodes disponibles pour estimer ces distances est le marquage isotopique du réseau trophique, permettant d'identifier l'origine d'un individu adulte capturé à une distance donnée d'un site de marquage (Macneale et al., 2005). Or, la reproduction est le but ultime de la dispersion des adultes. Cependant, du fait d'une certaine difficulté d'échantillonnage et de reconnaissance, les œufs d'insectes ont jusqu'ici été très peu étudiés, notamment pour la bioindication. Il s'agit pourtant d'une phase critique pour repérer la présence ou l'absence avérée d'une espèce dans une localité (e.g. Peckarsky et al., 2000). La prise en compte des œufs dans les diagnostics écologiques, spécialement ceux utilisés dans un contexte de mesure d'efficacité de restauration, permettrait de lever un certain nombre d'incertitudes relatives aux outils de bioévaluation actuels basés uniquement sur les listes de taxons et les stades de vie larvaires. Ces incertitudes sont liées au caractère stochastique de la recolonisation des milieux menant ou non à l'installation effective et pérenne des organismes.

DispEff s'inscrit dans la continuité des recherches menées par les équipes participantes sur le rôle de la dispersion pour la dynamique des populations et des méta-communautés dans les réseaux Rhône-Méditerranée (thèse de M.Gauthier ; ALBACOM), et contribue à l'exploration des outils innovants pour la bioindication (MISTRAL). Dans ce projet, nous proposons d'utiliser des analyses moléculaires et isotopiques pour estimer l'origine des œufs échantillonnés dans le cours d'eau et produire ainsi une estimation alternative et innovante de la distance de dispersion effective des adultes. DispEff s'articule avec RBio II, un projet déjà financé par ailleurs et s'inscrivant dans la deuxième phase d'expertise des réservoirs biologiques du bassin Rhône-Méditerranée (Agence de l'Eau RMC). Les estimations des distances de dispersion issues de DispEff pourront ainsi être comparées à celles obtenues par d'autres approches, et enrichir les modélisations prévues dans le projet RBio II, en étant notamment intégrées dans des modèles de distribution développés par M. Floury pour différents scénarios (restauration, changement climatique) à l'échelle locale (bassin versant) et régionale.

Les buts ultimes de DispEff seront de 1) proposer des outils complémentaires pour évaluer les effets des opérations de restauration en termes de recolonisation, 2) permettre de mieux prioriser les sites les plus propices à la restauration au sein des bassins versants en prenant en compte la capacité de dispersion des organismes comme élément de décision.

#### **Les objectifs du projet dans ce cadre seront donc les suivants :**

- Améliorer notre capacité de détermination des œufs des principales espèces des insectes aquatiques, indicatrices de différentes capacités de dispersion dans les têtes de bassins versants (RM) et fournir un premier guide pratique d'échantillonnage et d'identification ;
- Tester l'utilisation de ce stade de vie pour une estimation de distance de dispersion effective par les adultes des insectes dans le cadre d'une expérience de marquage (en lien avec le projet RBio II) ;
- Etudier les relations entre la distance de dispersion effective, la distance de dispersion maximale quantifiée pour les adultes et les traits biologiques des insectes aquatiques liés à la dispersion dans le but d'identifier la mesure de dispersion la plus adaptée pour estimer la probabilité de (re)colonisation des sites d'intérêt opérationnel (par exemple des sites restaurés).

La réalisation de ces objectifs permettra d'améliorer les prédictions des modèles régionaux de distribution des espèces de macroinvertébrés dans les bassins RM ainsi que l'estimation de l'influence des réservoirs biologiques à l'échelle des bassins versants en y intégrant l'aspect dispersion (en lien avec le projet RBio II).

- Livrables :

- (1) Production d'un petit guide photographique sur les masses d'œufs identifiés dans le cours d'eau étudié (photos + espèce + description du type de substrat utilisé) avec des consignes pratiques d'échantillonnage sur le terrain ;
- (2) Rédaction et diffusion d'un rapport décrivant les objectifs, les résultats scientifiques et les perspectives opérationnelles ;
- (3) Rédaction et diffusion d'une fiche synthétique ZABR.
- (4) Rédaction d'une note technique sur les enseignements opérationnels du projet

Ce projet résultera d'une collaboration étroite entre les deux équipes avec une réalisation conjointe de l'expérimentation. En même temps, chacune des deux équipes assurera la réalisation de tâches particulières et apportera son expertise sur certains domaines spécifiques.

**ENCART 2021-n°X-DispEff-EcoFlowS** (Responsable : Maria Alp)

- Tache de l'équipe dans le projet

Les participants de l'équipe EcoFlowS seront impliqués dans toutes les étapes du projet, de la conception et la préparation de travail de terrain jusqu'à la réalisation des analyses de laboratoire. En particulier, l'équipe assurera l'expertise scientifique et l'expérience nécessaires pour la réalisation des tâches suivantes :

- a. La détermination taxonomique (à partir de caractéristiques morphologiques) des stades adultes des insectes aquatiques (M.Forcellini/B.Launay/stagiaire) ;
- b. L'échantillonnage et la détermination préliminaire au niveau de famille/genre des masses d'œufs des invertébrés aquatiques (M.Alp/stagiaire) ;
- c. La réalisation des analyses moléculaires (M.Forcellini/B.Launay/M.Alp/stagiaire) ;
- d. La réalisation des mesures morphologiques sur les ailes des insectes adultes (M.Alp/stagiaire) ;
- e. L'encadrement du/de la stagiaire M2 (M.Alp) ;
- f. La préparation (photographie) et rédaction d'un guide photographique des masses d'œufs identifiés (M.Alp) ;
- g. L'interprétation et la valorisation scientifique et opérationnelle des résultats (M.Alp /T.Datry).

**ENCART 2021- n°X -DispEff-LEHNA** (Responsable : Sylvain Dolédec)

- Tache de l'équipe dans le projet :

Les participants de l'équipe LEHNA seront impliqués dans toutes les étapes du projet, de la conception et la préparation de travail de terrain jusqu'à la réalisation des analyses de laboratoire. En particulier, l'équipe assurera l'expertise scientifique et l'expérience nécessaires pour la réalisation des tâches suivantes :

- a. La réalisation des analyses isotopiques (L. Simon/M.Floury/stagiaire) ;
- b. L'intégration des estimations des distances de dispersion quantifiées dans DispEff dans les modèles de distribution développés au sein du projet RBio II (M.Floury) ;
- c. L'interprétation et la valorisation scientifique et opérationnelle des résultats (S. Dolédec, L. Simon, M. Floury).

**FINALITES ET ATTENDUS OPERATIONNELS** :

Une des **finalités opérationnelles du projet à long-terme** consistera en une amélioration de nos connaissances et de notre capacité d'identification des masses d'œufs des macroinvertébrés, un stade de vie encore largement négligé, bien que crucial pour la survie de la population et, pour certaines espèces, potentiellement limitant pour la colonisation des habitats (Lancaster et al 2010). Ainsi, une documentation précise des masses d'œufs au niveau de l'espèce et des substrats utilisés pour leur ponte (livrable 1) permettra de mener une réflexion sur :

- L'apport que représenterait l'utilisation des masses d'œufs en complément des méthodes actuelles de bioindication (notamment pour la vérification de la colonisation effective des habitats suite à une opération de restauration);
- L'éventuelle nécessité de prendre en compte les paramètres géomorphologiques d'habitat liés à la ponte d'œufs (disponibilité des substrats) dans les prédictions de la recolonisation ou de la persistance des espèces ayant des traits reproductifs particuliers dans les cours d'eau du futur.

Dans le cadre du développement des modèles de prédiction de la distribution des invertébrés aquatiques dans

les réseaux fluviaux, la comparaison des distances de dispersion estimées avec plusieurs approches (dispersion effective, dispersion maximale des adultes, dispersion potentielle) permettra de mieux quantifier les incertitudes liées au paramètre de la dispersion. **L'utilité opérationnelle immédiate** du projet pour cette application consistera dans l'intégration des nouvelles estimations des distances de dispersion effective dans les modèles des distributions des macroinvertébrés aquatiques au sein du bassin Rhône Méditerranée développés dans le projet RBio II (M. Floury). Elles pourront ainsi être intégrées non seulement dans les prédictions des modèles de distribution à l'échelle régionale (distributions des espèces attendues pour différents scénarios), mais permettront aussi d'estimer et de cartographier les potentielles aires d'influence des réservoirs biologiques. En croisant ces aires d'influence définies spécifiquement par espèce (ou par type de dispersion) avec les cartes de risques hydromorphologiques réalisées par l'Agence d'après le système d'audit Syrah-CE développé par Irstea (équipe LHQ), les zones les plus propices pour les opérations de restauration pourront ensuite être identifiées. Le rapport final du projet pourra inclure des premiers tests d'intégration des distances de dispersion effective comme paramètres de modèles de distribution appliqués sur quelques bassins versants (livrable 2).

## **OBJECTIFS ET METHODOLOGIE:**

Le projet DispEff démarrera au début de l'année 2021 en même temps que l'expérience de marquage isotopique (RBio II) qui visera l'émergence des espèces printanières (mars). L'expérience sera réalisée sur un petit cours d'eau déjà présélectionné : le Buizin dans le bassin versant de l'Albarine, caractérisé par une forte diversité taxonomique des insectes aquatiques (échantillonnages préliminaires réalisés au printemps 2020). Le Buizin est un cours d'eau de 2<sup>ème</sup> ordre de Strahler, boisé et sans affluent majeur ni rupture d'écoulements connue à proximité de la zone d'étude : c'est donc surtout la dispersion le long du linéaire du cours d'eau qui sera évaluée dans cette étude.

Les actions prévues dans le projet DispEff viseront spécifiquement à :

- Echantillonner les masses d'œufs pendant toute la durée de l'expérience de marquage isotopique dans le cours d'eau et documenter les substrats utilisés par différentes espèces (1) ;
- Détecter l'appartenance taxonomique précise de chaque masse d'œuf échantillonnée (2) et sa provenance ou non de la zone d'étude marquée (3) ;
- Estimer la capacité de dispersion potentielle des adultes des espèces échantillonnées en nombre suffisant en se basant sur la morphologie des ailes (4) ;
- Comparer les différentes estimations de la dispersion et réaliser une première évaluation de leur effet sur les estimations issues des modèles régionaux de distribution des espèces ainsi que sur les estimations des aires sous l'influence des réservoirs biologiques à l'échelle des bassins versants (en lien avec le projet RBio II) (5).

Pour atteindre ces objectifs plusieurs étapes du projet sont envisagées :

- (1) Un **marquage isotopique** sera réalisé sur le terrain. Il permettra de distinguer les insectes provenant d'une partie restreinte de la zone d'étude grâce à une signature distincte en C<sup>13</sup> et N<sup>15</sup> (Projet RBio II). Une fois l'efficacité de marquage isotopique sur le terrain confirmée (mesures isotopiques du périphyton et des larves), en parallèle avec l'échantillonnage des adultes sur 26 stations

d'échantillonnage pré-identifiées (pièges Malaises; 3-3.5 mois de durée totale d'expérience), un **échantillonnage des masses d'œufs** sera réalisé à proximité de celles-ci. Cela permettra de vérifier (ou non) la co-occurrence des stades adultes et des masses d'œufs. Cet échantillonnage visera surtout les espèces qui utilisent des substrats pour fixer leurs masses d'œufs : cailloux, bois morts, macrophytes (comportement décrit pour un grand nombre d'espèces d'invertébrés ; <https://www.freshwaterecology.info>). Les substrats avec des masses d'œufs seront photographiés, mesurés et notés, les masses d'œufs récupérées individuellement et ramenées au laboratoire.

Deux approches d'**échantillonnage** seront utilisées pour atteindre deux buts différents. Afin de décrire un nombre maximal de types de masses d'œufs en lien avec une détermination taxonomique, toutes les masses d'œufs morphologiquement distinctes seront échantillonnées pendant la durée de l'expérience pour l'analyse moléculaire. Afin d'estimer les distances de dispersion, une sélection de 3 espèces sera faite sur la base de leurs différences en termes de traits biologiques liés à la dispersion. Les espèces candidates envisageables, présentes sur le site d'étude dans des densités importantes, sont les éphémères de la famille des Baetidae, les trichoptères des familles Hydropsychidae et Rhyacophilidae, ainsi que des espèces des macroinvertébrés purement aquatiques (Hirudinea /planaires).

- (2) La moitié de chacune des masses d'œufs échantillonnées ainsi que quelques adultes par espèce seront soumis à une **analyse moléculaire** pour la détermination taxonomique (séquençage du gène CO1 ou « barcoding »). L'extraction ADN et les réactions PCR seront réalisées par le/la stagiaire recruté.e sous la supervision des membres de l'équipe EcoFlowS à la Plateforme Moléculaire du LEHNA. L'étape de séquençage sera sous-traitée (BIOFIDAL). L'analyse des séquences sera réalisée à INRAE et les séquences comparées avec celles déposées pour les insectes aquatiques dans la base de données GenBank.
- (3) Une **analyse des isotopes stables** ( $C^{13}$  et  $N^{15}$ ) sera réalisée sur la deuxième moitié des masses d'œufs des espèces sélectionnées pour une estimation de distance de dispersion. Celle-ci sera réalisée par spectrométrie isotopique sur la plateforme « Ecologie Isotopique » du LEHNA sous la supervision de L. Simon.
- (4) Des **analyses morphométriques** caractérisant la taille et la forme des ailes seront réalisées sur les adultes des espèces sélectionnées pour acquérir une mesure *in situ* des traits liés à la dispersion. Pour cela, les ailes seront conservées séparément avec un identifiant individuel permettant de les associer à la date et au lieu précis de la capture de l'adulte. Une photographie sera prise pour chaque aile permettant une analyse ultérieure avec le logiciel IMAGE J. Ces mesures permettront de valider les valeurs de ces paramètres rapportés dans des bases de données européennes pour les macroinvertébrés (Sarremejane et al 2020 ; [freshwaterecology.info](https://www.freshwaterecology.info)).
- (5) Le **niveau de corrélation** entre les paramètres morphométriques exprimant la capacité de dispersion et les estimations des distances de dispersion réelle réalisées à partir (i) des captures des adultes marqués (RBio II) et (ii) de la localisation des œufs marqués (DispEff) sera testé au niveau inter- et intra-spécifique.

Dans la continuité de ce travail, l'effet des différentes estimations des distances de la dispersion sur les prédictions de la distribution des espèces et le degré d'incertitude associé seront évalués à deux échelles spatiales : régionale (Rhône Méditerranée) et locale (bassin versant) dans le cadre du projet RBio II. Dans le premier cas, les possibles effets limitants de capacité de dispersion par rapport à la réponse aux changements climatiques (e.g. modification des aires de répartition) seront évalués à l'aide des modèles de distribution d'espèces développés par M. Floury à l'échelle du bassin Rhône Méditerranée. Dans le deuxième cas, l'effet des capacités de dispersion (et l'incertitude liée aux différentes mesures permettant de les estimer) sur l'étendue des aires sous l'influence des réservoirs biologiques sera estimé pour quelques cas de bassins versants sélectionnés.

**DUREE DU PROJET:** 12 mois

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- ALBACOM: Fragmentation dynamique, dispersion et structuration des communautés aquatiques. Projet Accord cadre ZABR-Agence de l'Eau (2017).
- Carpenter, S. R., Stanley, E. H., & Vander Zanden, M. J. (2011). State of the world's freshwater ecosystems: physical, chemical, and biological changes. *Annual review of Environment and Resources*, 36, 75-99.
- Crabot, J. (2019) Continuité écologique, fragmentation et dynamique spatio-temporelle des communautés en rivières intermittentes. Thèse doctorale, Université Claude Bernard Lyon I.
- Elliott, J. M. (2003). A comparative study of the dispersal of 10 species of stream invertebrates. *Freshwater Biology*, 48 (9), 1652–1668.
- Engler, R., Hordijk, W., & Guisan, A. (2012). The MIGCLIM R package – seamless integration of dispersal constraints into projections of species distribution models. *Ecography*, 35(10), 872–878.
- Heino, J., Alahuhta, J., Ala-Hulkko, T., Antikainen, H., Bini, L. M., Bonada, N., ... & Melo, A. S. (2017). Integrating dispersal proxies in ecological and environmental research in the freshwater realm. *Environmental Reviews*, 25(3), 334-349.
- Hughes, J. M. (2007). Constraints on recovery: using molecular methods to study connectivity of aquatic biota in rivers and streams. *Freshwater Biology*, 52(4), 616-631.
- Lancaster, J., Downes, B. J., & Arnold, A. (2010). Environmental constraints on oviposition limit egg supply of a stream insect at multiple scales. *Oecologia*, 163(2), 373-384.
- Lancaster, J., & Downes, B. J. (2017). Dispersal traits may reflect dispersal distances, but dispersers may not connect populations demographically. *Oecologia*, 184(1), 171-182.
- LEMA (2006). Loi n° 2006-1772 du 30 décembre 2006 sur l'eau et les milieux aquatiques
- MISTRAL : Metabarcoding pour le suivi des opérations de restauration de l'Albarine. Projet Accord cadre ZABR-Agence de l'Eau (2020)
- Macneale, K. H., Peckarsky, B. L., & Likens, G. E. (2005). Stable isotopes identify dispersal patterns of stonefly populations living along stream corridors. *Freshwater Biology*, 50(7), 1117-1130.
- Peckarsky, B. L., Taylor, B. W., & Caudill, C. C. (2000). Hydrologic and behavioral constraints on oviposition of stream insects: implications for adult dispersal. *Oecologia*, 125(2), 186-200.
- Radinger, J., Essl, F., Hölker, F., Horký, P., Slavík, O., & Wolter, C. (2017). The future distribution of river fish: The complex interplay of climate and land use changes, species dispersal and movement barriers. *Global Change Biology*, 23(11), 4970-4986.
- Sarremejane, R., Puey, N. C., Datry, T., Stubbington, R., Alp, M., Canedo-Arguelles, M., ... & Forcellini, M. (2020). DISPERSE: A trait database to assess the dispersal potential of aquatic macroinvertebrates. *BioRxiv*.
- Tonkin, J. D., Stoll, S., Sundermann, A., & Haase, P. (2014). Dispersal distance and the pool of taxa, but not barriers, determine the colonisation of restored river reaches by benthic invertebrates. *Freshwater Biology*, 59(9), 1843-1855.